MSwab™

Collection, Preservation and Transport System

Product Insert & How to Use Guide

IVD

Copan MSwab™ Collection, Preservation and Transport System for molecular and culture applications - Product Insert & How To Use Guide

See symbol glossary at end of insert

INTENDED USE

MSwab™ is a Collection, Transport and Preservation System intended for the collection and transport of clinical specimens from the collection site to the testing laboratory. Once in the laboratory, it can be processed using standard operating procedure for:
- bacterial culture of gram positive aerobic and facultative anaerobic organisms
- viruses culture of HSV 1 and HSV 2
- nucleic acids detection of bacteria and viruses

SUMMARY AND PRINCIPLES

One of the routine procedures in the diagnosis of bacteriological infections involves the collection and safe transportation of swab samples. This can be accomplished using the Copan MSwab™ that is a Collection, Transport and Preservation System. The medium is designed to maintain the viability of Gram positive aerobic and facultative anaerobic bacteria and viruses during transit to the testing laboratory.
MSwab™ preserves nucleic acids of pathogenic agents to be detected with molecular amplification techniques (NAAT).

Copan MSwab™ Collection, Transport and Preservation System is supplied in three different formats:
a) Collection kit format. Each collection kit consists of a package containing a plastic screw-cap tube with conical shaped bottom filled with 1 ml of MSwab™ transport and preservation medium and a small sterile peel pouch containing one specimen collection FLOQSwab™ that has a tip flocked with nylon fiber.
b) Tube only format. A plastic screw-cap tube with conical shaped bottom filled with 1 ml or 2 ml of MSwab™ transport and preservation medium.
c) Collection kit format with cleaning swab. Each collection kit consists of a package containing a plastic screw-cap tube with conical shaped bottom filled with 2 ml of MSwab™ transport and preservation medium and a small sterile peel pouch containing one specimen collection FLOQSwab™ that has a tip flocked with nylon fiber and a sterile peel pouch containing one cleaning swab with large tip in fiber wound for the removal of excess vaginal mucus.

Once a swab sample is collected, it should be placed immediately into the MSwab™ transport medium. Swab specimens for bacterial or viral investigations collected using MSwab™ should be transported directly to the laboratory, preferably within 2 hours of collection (1, 2, 7) to maintain optimum organism viability. If immediate delivery or processing is delayed, then specimens should be refrigerated at 4 – 8ºC or stored at room temperature (20 – 25°C) and processed within 48 hours. Bacterial viability studies for Staphylococcus aureus, ATCC 29213 and ATCC 6538, and Staphylococcus aureus (Methicillin resistant) ATCC 43300 and ATCC 700698 show viability of the tested organisms up to 14 days at refrigerated temperature (4 – 8°C) or 72 hours at room temperature (20 – 25°C). Independent scientific studies on swab transport systems have shown that for certain bacteria viability is superior at refrigerated temperatures compared with room temperature (12 – 21). If viral samples must be frozen, they should be frozen at -70ºC.
Swab specimens collected using MSwab™ for bacterial and viral nucleic acids investigations should be processed within14 days when stored at room temperature (20 – 25°C), within 21 days when stored at 4°C and within 6 months when stored at -20°C.

REAGENTS

Formulation of MSwab™ Transport Medium

TRIS HCl
EDTA
TRIS Base
Dimethyl Sulfoxide (DMSO)
Bovine Serum Albumin
Distilled water

PRECAUTIONS

1. This product is For In Vitro Diagnostic Use.
2. Observe approved biohazard precautions and aseptic techniques. To be used only by adequately trained and qualified personnel.
3. All specimens and materials used to process them should be considered potentially infectious and handled in a manner which prevents infection of laboratory personnel. Sterilize all biohazard waste including specimens, containers and media after their use. Observe other CDC Biosafety Level 2 recommendations (31, 32, 33, 34).
4. Directions should be read and followed carefully.

STORAGE

This product is ready for use and no further preparation is necessary. The product should be stored in its original container at 5 – 25°C until used. Do not overheat. Do not incubate or freeze prior to use. Improper storage will result in a loss of efficacy. Do not use after expiration date, which is clearly printed on the outer box and on each individual collection unit and the specimen transport tube label.

PRODUCT DETERIORATION

Copan MSwab™ should not be used if (1) there is evidence of damage or contamination to the product, (2) there is evidence of leakage, (3) the expiration date has passed, (4) the swab package is open, or (5) there are other signs of deterioration.

SPECIMEN COLLECTION, STORAGE AND TRANSPORTATION

Specimens collected for microbiological investigations which comprise the isolation of bacteria or viruses should be collected and handled following published manuals and guidelines (7, 8, 4).

To maintain optimum organism viability and nucleic acids integrity, transport specimens collected using MSwab™ directly to the laboratory, preferably within 2 hours of collection (1, 2, 7). If immediate delivery or processing is delayed, then specimens should be refrigerated at 4 – 8ºC or stored at room temperature (20 – 25°C) and processed within 48 hours. Bacterial viability studies for Staphylococcus aureus, ATCC 29213 and ATCC 6538, and Staphylococcus aureus (Methicillin resistant) ATCC 43300 and ATCC 700698 show viability of the tested organisms up to 14 days at refrigerated temperature (4 – 8°C) or 72 hours at room temperature (20 – 25°C). If viral samples must be frozen, they should be frozen at -70ºC.
Specimens collected using MSwab™ to be analyzed with NAAT should be processed within 14 days when stored at room temperature (20 – 25°C), within 21 days when stored at 4°C and within 6 months when stored at -20°C.

Specific requirements for the shipment and handling of specimens should be in full compliance with state and federal regulations (34, 35, 36, 37). Shipping of spe-

cimens within medical institutions should comply with internal guidelines of the institution. All specimens should be processed as soon as they are received in the laboratory.

MATERIALS SUPPLIED

Fifty (50) MSwab™ collection units are contained in a shelf pack and 6 x 50 units are contained in a box.

Copan MSwab™ Collection, Transport and Preservation System is supplied in three different formats:
a) Collection kit format. Each collection kit consists of a package containing a plastic screw-cap tube with conical shaped bottom filled with 1 ml of MSwab™ transport and preservation medium and a small sterile peel pouch containing one specimen collection FLOQSwab™ that has a tip flocked with nylon fiber.
b) Tube only format. A plastic screw-cap tube with conical shaped bottom filled with 1 ml or 2 ml of MSwab™ transport and preservation medium.
c) Collection kit format with cleaning swab. Each collection kit consists of a package containing a plastic screw-cap tube with conical shaped bottom filled with 2 ml of MSwab™ transport and preservation medium and a small sterile peel pouch containing one specimen collection FLOQSwab™ that has a tip flocked with nylon fiber and a sterile peel pouch containing one cleaning swab with large tip in fiber wound for the removal of excess vaginal mucus.

Two main types of collection applicators are available: regular size flocked nylon applicator intended for the collection of samples from nose, throat, vagina, rectum, feces or wounds; pernasal thin and flexible nylon flocked applicator for the collection of samples from the nasopharynx. All collection swab applicators provided with MSwab™ have a molded breakpoint in the shaft of the applicator which is highlighted with a colored indication line marked on the shaft of the applicator. After the sample is collected from the patient, the molded breakpoint facilitates easy breakage of the swab applicator into the MSwab™ tube of transport medium. MSwab™ tube caps have an internal molded design that is able to capture the swab shaft when it is broken off into the tube and the cap is closed (see Fig.2). The action of screwing the cap onto the tube moves the end of the broken swab shaft into a funnel shaped molded docking receptacle in the cap. This molded funnel shape effectively captures the end of the broken applicator shaft and secures it firmly in the dock by friction grip. In the testing laboratory when the swab cap is unscrewed and removed, the swab applicator is attached to the cap. This feature allows the operator to conveniently remove the swab from the transport tube and perform various microbiology analyses using the tube cap as a handle to hold the swab applicator.
Due to the flexibility of the shaft of pernasal swab (6E013N), the capture cap feature is not applicable, as the broken applicator may not firmly fit into the cap.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

Appropriate materials for isolating and culturing aerobic and facultative anaerobic bacteria. These materials include culture media plates or tubes and incubation systems. Refer to laboratory reference manuals for recommended protocols for culture and identification techniques for aerobic and facultative anaerobic from clinical swab samples (2, 4).
Appropriate materials for isolating, differentiating and culturing viruses. These materials include tissue culture cell lines, tissue culture medium, incubation systems and reading equipment. Refer to appropriate references for recommended protocols for isolation and identification of viruses (1, 7).
Appropriate materials for nucleic acids extractions and amplifications for molecular assays. Heating block and centrifuge for rapid extraction method. Refer to laboratory reference manuals for nucleic acid detections and amplifications from clinical swab samples.

In case of rapid extraction method, it is suggested to transfer the appropriate aliquot of MSwab™ (see paragraph **Processing MSwab™ specimens for molecular testing in the laboratory point B**) in Copan tube with glass beads (code available separately 2E013S50)

DIRECTIONS FOR USE

Copan MSwab™ Collection, Transport and Preservation System is available in product configurations indicated in the table below.

Table 1

Catalog No.	Copan MSwab™ Product Descriptions	Pack Size
6E012N	Single use sample collection pack containing: - 12mm x 80 mm screw cap tube containing 1ml MSwab™ transport and preservation medium - One FLOQSwab™ applicator regular size with flocked nylon fiber tip, sterile and individually wrapped.	50 units/box 6x50units/case
6E013N	Single use sample collection pack containing: -12mm x 80 mm screw cap tube containing 1ml MSwab™ transport and preservation medium - One pernasal thin & flexible FLOQSwab™ applicator with flocked nylon fiber tip, sterile and individually wrapped.	50 units/box 6x50units/case
6E011N	Single transport and preservation tube: -1 ml MSwab™ transport and preservation medium in screw cap tube 12 x 80 mm with internal conical shape	50 units/box 6x50units/case
6U019N	Single transport and preservation tube: -2 ml MSwab™ transport and preservation medium in screw cap tube12 x 80 mm with internal conical shape	50 units/box 6x50units/case
6E028N.MER	Single use sample collection pack containing: - 12mm x 80 mm screw cap tube containing 2 ml MSwab™ transport and preservation medium - One FLOQSwab™ applicator regular size with flocked nylon fiber tip, sterile and individually wrapped. -One swab with large tip in fiber wound, sterile and individually wrapped.	50 units/box 6x50units/case

Other product codes may be available. For updates please refer to our website: www.copanflock.com

Specimen Collection

Proper specimen collection from the patient is extremely critical for successful isolation and identification of infectious organisms. For specific guidance regarding specimen collection procedures, consult published reference manuals (7, 2).

Do not use the MSwab™ medium for pre-moistening or pre-wetting the applicator swab prior to collecting the sample or for rinsing or irrigating the sampling sites.

For MSwab™ codes 6E012N e 6E013N:

1. Peel open the kit package and remove the tube of medium and inner pouch containing the sterile swab applicator (see Figure 1).
2. Remove the swab applicator from its peel pouch and use to collect the clinical specimen. The operator must touch the swab applicator only above the colored breakpoint line, as illustrated in Figure 1, which is the opposite end to the nylon fiber tip. At all times when handling the swab applicator, the operator must not touch the area below the colored breakpoint line (the area from the line to the tip of the nylon flocked swab) as this will lead to contamination of the applicator shaft and the subsequent culture.
3. Collect the sample from the patient.
4. Unscrew and remove the cap from MSwab™ tube making sure not to spill the medium.
5. Insert the swab into the tube until the red marked breaking point is at the level of the tube opening.
6. Bend and break the swab at the red marked breaking point holding the tube away from your face.
7. Discard the broken handle part of the swab shaft into an approved medical waste disposal container.
8. Replace cap on the tube and secure tightly.
9. Write patient information on the tube label or apply patient identification label. Send the sample to the test laboratory

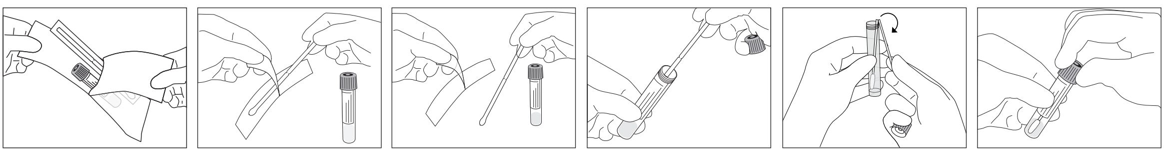
For MSwab™ code 6E028N.MER:

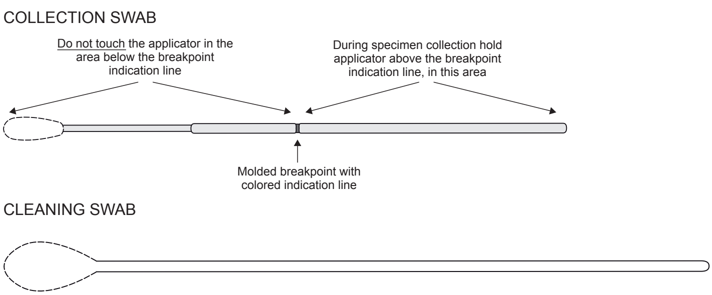
1. Peel open the kit package and remove the tube of medium and the two inner pouches, one containing the sterile swab applicator and one containing the cleaning swab with large tip “Cleaning Swab”.
2. The use of cleaning swab is recommended only for the endocervical specimen collection procedure. The cleaning swab, (made with large tip in fiber wound) – see Figure 1, is used only to remove the excess mucus present on the external cervical os and surrounding mucosa. **After use, discard the swab.** The large cleaning swab must not be used and must be discarded in case of specimen collection procedure other than endocervical.
3. For the collection of clinical specimens refer to the instructions reported for codes 6E012N and 6E013N from point 2 and subsequents.

For MSwab™ 6E011N e 6U019N:

1. After the swab sample is taken from the patient, unscrew and remove the cap from MSwab™ tube making sure not to spill the medium.
2. Insert the swab into the tube.
3. If the swab has a breaking point, bend and break the swab at the breaking point holding the tube away from your face.
4. Replace cap on the tube and secure tightly.
5. Write patient information on the tube label or apply patient identification label. Send the sample to the test laboratory

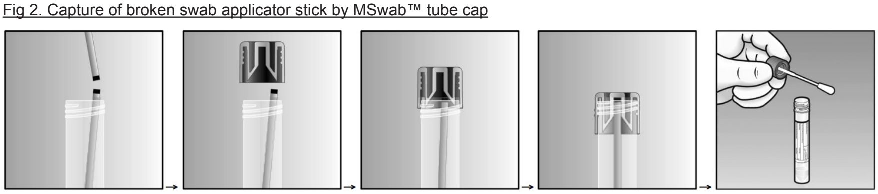
Fig 1. Collection swab showing breakpoint indication line and area for holding the applicator





The operator must only handle the part of the swab applicator shaft above the breakpoint indication line as shown in Fig 1. After the swab sample is taken from the patient, the swab applicator shaft is broken off at the colored breakpoint indication line into the MSwab™ tube of transport medium. The operator then discards the handle part of the swab into an approved medical waste disposal container. The tube’s screw cap is then replaced and secured tightly. The action of screwing the cap onto the tube moves the end of the broken swab shaft into a funnel shaped molded docking receptacle in the cap (see Fig 2). This molded funnel shape captures the end of the broken applicator shaft and secures it firmly in the dock by friction grip.

Fig 2. Capture of broken swab applicator stick by MSwab™ tube cap



Capture Cap Feature is guaranteed only when using Copan Regular Size Flock Swab.

In the testing laboratory when the MSwab™ cap is unscrewed and removed, the swab applicator stick is securely attached to the cap. This feature allows the operator to conveniently remove the swab and perform various microbiology analyses using the tube cap as a handle to hold and manipulate the swab.

NOTE ABOUT CAPTURE CAP FEATURE:
The tube cap is designed to have capturing feature when COPAN regular size flock swab is used and broken inside the tube. If pernasal flock swab is used and broken into the tube then the capturing feature is not guaranteed.
Pernasal thin and flexible swab (6E013N) must be carefully removed from the tube immediately before proceeding with sample analysis. This precaution is intended to avoid accidental falling of the swab from the cap

Processing MSwab™ Specimens in the Laboratory – Bacteriology

MSwab™ samples should be processed for bacteriological culture using recommended culture media and laboratory techniques which will depend on the specimen type and the organism under investigation. For recommended culture media and techniques for the isolation and identification of bacteria from clinical swab specimens refer to published microbiology manuals and guidelines (1-6).
Culture investigations of swab specimens for the presence of bacteria routinely involve the use of solid agar culture medium in Petri dish plates. The procedure for inoculation of MSwab™ samples onto solid agar in Petri dishes is as follows.

Note: Wear latex gloves and other protection commensurate with universal precautions when handling clinical specimens. Observe other CDC Biosafety Level 2 recommendations (31, 32, 33, 34).

Vortex mix the MSwab™ tube containing the swab sample for 5 seconds to release the sample from the swab tip and evenly disperse and suspend the patient specimen in the medium

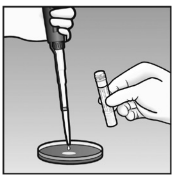
1. Unscrew the MSwab™ cap and remove the swab applicator.
2. Roll the tip of the MSwab™ applicator onto the surface of one quadrant of the culture media plate to provide the primary inoculum.
3. If it is necessary to culture the swab specimen onto a second culture media plate, return the MSwab™ applicator to the transport medium tube for two seconds to absorb and recharge the applicator tip with transport medium/patient sample suspension then repeat Step No. 3.
4. If it is necessary to inoculate additional culture media plates, return the MSwab™ applicator to the transport medium tube and recharge the swab applicator tip with the transport medium/patient sample suspension before inoculating each additional plate.

The procedure described above utilizes the MSwab™ applicator like an inoculation wand to transfer the suspension of patient sample in transport medium onto the surface of a culture plate creating the primary inoculum (see Fig 3).
Alternatively, the operator can vortex mix the MSwab™ tube with the swab inside for 5 seconds and then transfer 100µl volumes of the suspension onto each culture plate using a volumetric pipetor and sterile pipet tips. Standard laboratory techniques should then be used to streak the primary inoculum of patient sample across the surface of the culture plate (see Fig 4).

Fig 3. Procedures for inoculation of MSwab™ specimens onto solid agar in Petri dishes

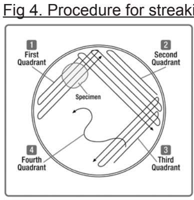


1. Using swab to inoculate specimen



2. Using pipetor and sterile pipet tips to inoculate 100µl of specimen
This inoculation procedure should be considered preferable if the clinical specimen is also processed with NAAT assays.

Fig 4. Procedure for streaking MSwab™ specimens on agar Petri dishes for primary isolation (33)



Seed a primary inoculum of MSwab™ specimen onto the surface of an appropriate agar culture plate in the first quadrant.

Use a sterile bacteriology loop to streak the primary inoculum across the surface of the second, third and fourth quadrants of the agar culture plate.

Preparation of Gram Stain Smears of MSwab™ Specimens

Laboratory analysis of clinical swab samples collected from certain sites on the patient can routinely include microscopic examination of stained preparations ("direct smears") using the Gram stain procedure. This can provide valuable information to physicians who are managing patients with infectious diseases (22). There are many instances in which a Gram stain can assist in making a diagnosis (23, 27).
The Gram stain can also help to judge specimen quality and contribute to the selection of culture media especially with mixed flora.
Microscope slides of patient specimens transported in Copan MSwab™ transport system can be prepared for Gram stain analysis, as describe below, by sampling an aliquot of vortexed suspension of the swab (3, 4). Sample transported in MSwab™ elution medium represent a homogeneous suspension in liquid phase. It can be uniformly smeared allowing clear and easy reading.

Note: Wear latex gloves and other protection commensurate with universal precautions when handling clinical specimens. Observe other CDC Biosafety Level 2

recommendations (31, 32, 33, 34).

1. Take a clean glass microscope slide, place it on a flat surface and inscribe an area using a diamond-tipped or similar glass marker to identify the location of the specimen inoculum. Note: a slide with a pre-marked 20 mm well can be used.

2. Vortex mix the MSwab™ tube containing the swab sample for 5 seconds to release the sample from the swab tip and evenly disperse and suspend the patient specimen in the medium.

3. Unscrew the MSwab™ cap and using a sterile pipet, transfer 1 – 2 drops of sample suspension to the inscribed area on the glass slide. Note: about 30μl would be a suitable amount of liquid for a pre-marked 20 mm diameter well slide.

In case of bloody or thicker specimens particular care should be taken to thinly spread the sample on the slide. Bacteria are difficult to detect if the sample shows many red cells and debris.

4. Allow the specimen on the slide to air dry at room temperature or place the slide in an electric slide warmer or incubator set at a temperature not exceeding 42°C.

5. Fix smears using methanol. Methanol fixation is recommended as it prevents lysis of Red Blood Cells, avoids damage to all host cells and results in a cleaner background (3, 4, 22).

6. Follow published laboratory reference manuals and guidelines for performing the Gram stain. If commercial Gram stain reagents are used, it is important to comply with instructions in the manufacturer's product insert for performance test procedure.

For further information or guidance on the preparation of specimen slides for microscopic analysis, for information on Gram staining procedures and the interpretation and reporting of microscopic analysis, consult published laboratory reference manuals (1 - 5, 22 - 27).

Processing MSwab™ Specimens in the Laboratory – Virology

The survival of HSV 1 and HSV 2 depends on many factors including the type and concentration of the microorganism, duration of transport and storage temperature. To maintain optimum viability, specimens should be transported directly to the laboratory preferably within 2 hours of collection (1, 2, 7, 29). If immediate delivery or processing is delayed, then specimens collected using Copan MSwab™ Collection, Transport and Preservation System should be refrigerated at 4-8ºC or stored at room temperature (20-25°C) and processed within 48 hours. If samples must be frozen, they should be frozen placed at -70ºC.

In simulated transport and storage studies, the Copan MSwab™ System was shown to be capable of maintaining the viability of HSV 1 and HSV 2 at refrigerated (4-8°C) and room temperature (20-25°C) conditions for up to 48 hours. Based on performance studies conducted by Copan and independent scientific publications, viability of certain microorganisms is superior at refrigerated temperatures compared with room temperature (12 – 21, 29).

MSwab™ specimens should be processed for virology culture using recommended cells line and laboratory techniques that will depend on the specimen type and the organism under investigation. For recommended shell vials and techniques for the isolation and identification of HSV 1 and HSV 2 from clinical swab specimens, refer to published virology manuals and guidelines (1 – 6, 29, 30).

Culture investigations of swab specimens for the presence of HSV 1 and HSV 2 routinely involve the use of cells culture in shell vials. The procedure for inoculation of MSwab™ specimens onto shell vials is described below.

NOTE: Wear latex gloves and other protection commensurate with universal precautions when handling clinical specimens. Observe other BSL 2 recommendations.

1. Shake using a vortex mixer for 5 seconds the MSwab™ tube containing the swab specimen to release the specimen from the swab tip and evenly disperse and suspend the patient specimen in the liquid transport medium.
2. Unscrew the MSwab™ cap and remove the swab applicator.
3. Transfer 200 μl volumes of the suspension into the shell vial and proceed as per laboratory internal procedure.

NOTE: Patient specimen that may contain a high load of bacterial contaminants may require additional antibiotics into the refeed medium.

4. Proceed with the appropriate techniques for virus detection.

Processing MSwab™ specimens for molecular testing in the laboratory.

Specimens received in the laboratory for nucleic acid detection should be processed when received in the laboratory. In case of delay, please refer to the appropriate specimen storage conditions.

NOTE: Wear gloves and other protection commensurate with universal precautions when handling clinical specimens. Observe other CDC Biosafety Level 2 recommendations (31, 32, 33, and 34).
When working with molecular methods care should be taken to prevent carry over contamination. Spatial separation of working areas and unidirectional workflow are essential to prevent amplicon carry-over. (35)

MSwab™ medium formulation has been developed to be compatible with PCR Master Mixes; this makes it suitable for direct NAAT assays without the need of a standard extraction and purification step.
Two different methods (A and B) can be applied to MSwab™ sample processing :

A) Standard extraction method:

1. Mix MSwab™ tube with a vortex mixer for 10 seconds, unscrew the cap and using it as a handle, spin the cap in between the thumb and index finger to drain most of the fluid from the tip.

NOTE: Due to the flexibility of the shaft of pernasal swabs (6E013N), the capture cap feature is not applicable, as the broken applicator may not firmly fit into the cap. In this case, use tweezers to extract the applicator from the tube after spinning the swab tip to extract most of the fluid from the tip.

2. Discard the swab, and transfer the appropriate amount of sample (e.g. 200ul) to an extraction tube as per laboratory SOP.
3. Continue as per extraction and amplification kits procedures

The MSwab™ has been tested with the following extraction methods: Silica-gel membrane (Qiagen, Macherey & Nagel)and Magnetic beads (EasyMAG, Qiasymphony, Magnapure). Other extraction methods may be also applicable prior validation.

B) Rapid extraction method:

A thermal shock step is suggested to lyse samples for viral detection.

1. Vortex original tube of MSwab™ sample for 10 seconds.

NOTE: Due to the flexibility of the shaft of pernasal swabs (code 6E013N), the capture cap feature is not applicable, as the broken applicator may not firmly fit into the cap. In this case, use tweezers to remove t the swab from the tube.

2. Using a micropipette, transfer 200 µl to a sterile microtube containing glass beads (2E013S50: Copan Tube with glass beads not supplied with the kit) and vortex 10s. Store the original MSwab™ sample for culture or additional testing.
3 Heat in a thermostat set at 98°-100°C for at least:
   - 3 min FOR VIRUSES
   - 10 min FOR BACTERIA GRAM POSITIVE
   - 5 min FOR BACTERIA GRAM NEGATIVE
4. Cool the tube at Room Temperature for 5 min.
5. Centrifuge the microtube at 10000xg for 2 min to settle cells debris.
6. Transfer an aliquot of the heat treated MSwab™ sample to the master mix and amplify as per amplification kit procedure.

Rapid extraction method as described above has been tested with R-Biopharm RIDA®GENE Real Time PCR kits, with Seegene Anyplex FluA/B Typing Real Time detection kit and with Genesig Real Time PCR kits by Primer Design in comparison with standard extraction method. Other PCR amplification kit maybe also applicable prior validation. Tested strains include : B. pertussis (ATCC 8467), S. aureus (methicillin resistant) (ATCC 43300), E. coli O157-H7 (ATCC 700728), S. tiphimurium (ATCC 14028), C. difficile (ATCC 9689), Influenza A virus (ATCC VR-822), Influenza B virus (ATCC VR 786), Neisseria gonorrhoeae (ATCC 43069) and Chlamydia trachomatis (ATCC VR880). Tests were not conducting using human matrixes.Results obtained will largely depend on proper and adequate specimen collection, as well as timely transport and processing in the laboratory.

Results obtained will largely depend on proper and adequate specimen collection, as well as timely transport and processing in the laboratory.

QUALITY CONTROL

MSwab™ applicators are tested to ensure they are non-toxic to bacteria. MSwab™ medium and applicators are tested to ensure they are non-toxic to cell lines used for HSV 1 and HSV 2 cultivation. MSwab™ transport medium is tested for pH stability and for absence of inhibitors with direct nucleic acid amplification (9). MSwab™ is quality control tested before release for ability to maintain viable Gram positive aerobic and facultative anaerobic bacteria and HSV viruses at room temperature (20 – 25°C) for specified time points Procedures for quality control of microbiology transport devices should be conducted using testing methods described in Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A and other publications (9). If aberrant quality control results are noted, patient results should not be reported.

LIMITATIONS

1. In the laboratory, wear latex gloves and other protection commensurate with universal precautions when handling clinical specimens. Observe other CDC Biosafety Level 2 recommendations (31, 32, 33, 34) when handling or analyzing patient samples.
2. Condition, timing and volume of specimen collected for culture are significant variables in obtaining reliable culture results. Follow recommended guidelines for specimen collection (7, 8, 4).
3. MSwab™ is intended for use as a collection and transport medium for colture of gram positive aerobic and facultative anaerobic bacteria, HSV 1 and HSV 2 viruses and for nucleic acids detection of bacteria and viruses. MSwab™ cannot be used as enrichment, selective or differential medium.
4. MSwab™ is an antibiotics free medium. Patient specimen that may contain a high load of bacterial contaminants may require additional antibiotics into the refeed medium.
5. Performance testing with Copan MSwab™ was conducted using laboratory strains spiked onto a swab following the test protocols described in Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A Approved Standard (9). Perfomance testing was not conducted using human specimens.
6. Performance testing with Copan MSwab™ was conducted using Copan flocked swabs.

WARNINGS

1. Not for diagnostic use.
2. Do not re-sterilize unused swabs.
3. ② This product is for single use only; reuse may cause a risk of infection and/or inaccurate results.
4. Do not re-pack.
5. Not suitable for any other application than intended use.
6. The use of this product in association with a rapid diagnostic kit or with diagnostic instrumentation should be previously validated by the user.
7. Do not use if the swab is visibly damaged (i.e., if the swab tip or swab shaft is broken).
8. Do not use excessive force or pressure when collecting swab samples from patients as this may result in breakage of the swab shaft.
9. Do not use the same tube for more than one patient. This causes wrong or bad diagnosis.
10. Before transporting, make sure MSwab™ screw cap is tightly closed.
11. Dispose of unused reagents, waste and specimens in accordance with local regulations.
12. Avoid contact of MSwab™ medium with skin, mucous membranes. If contact does occurs, immediately wash with a large amounts of water.
13. Do not ingest the medium.
14. Directions for use must be followed carefully. The manufacturer cannot be held responsible for any unauthorized or unqualified use of the product.
15. To be handled by trained personnel only.
16. It must be assumed that all specimens contain infectious micro-organisms; therefore all specimens must be handled with appropriate precautions. After use, tubes and swabs must be disposed of according to laboratory regulations for infectious waste. Observe CDC Biosafety Level 2 recommen dations (31, 32, 33, 34).
17. Do not use the MSwab™ medium for pre-moistening or pre-wetting the applicator swab prior to collecting the sample or for rinsing or irrigating the sampling sites.

RESULTS

Results obtained will largely depend on proper and adequate specimen collection, as well as timely transport and processing in the laboratory.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Bacterial recovery

The test procedures employed for determining bacterial viability performance were based upon the quality control methods described in Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A (9).

MSwab™ system has an intended use limited to Gram positive aerobic and facultative anaerobic bacteria and HSV 1 and HSV 2, therefore its field application is more restricted than some other devices. For this reason the bacterial recovery studies were conducted under the simulated transport and storage conditions as described and defined in CLSI M40-A, Quality Control of Microbiological Transport Systems: Approved Standard and included only the Gram positive aerobic and facultative anaerobic strains from the Group 1 of paragraph 7.11.1 of the CLSI M40-A document, in particular:

Streptococcus pyogenes	ATCC® 19615
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 6305
Pseudomonas aeruginosa	ATCC® BAA-427

In addition, Copan included testing of additional Gram positive aerobic and facultative anaerobic microorganisms, clinically relevant, not required by CLSI M40-A. The specific bacterial strains used in these studies are here listed:

Enterococcus faecalis	ATCC® 29212
Staphylococcus epidermidis	ATCC® 12228
Staphylococcus aureus	ATCC® 29213
Streptococcus agalactiae (Group B Strep)	ATCC® 13813
Kocuria rhizophila	ATCC® 9341
Listeria monocytogenes	ATCC® 19114
Bacillus cereus	ATCC® 10876
Staphylococcus aureus (Methicillin resistant)	ATCC® 43300
Staphylococcus aureus	ATCC® 6538
Staphylococcus aureus (Methicillin resistant)	ATCC® 700698
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 49136

All cultures of bacteria were ATCC (American Type Culture Collection) and were obtained commercially.

The selection of these organisms also reflects those Gram positive aerobic and facultative anaerobic bacteria that would normally be encountered in specimens collected and analyzed in a typical clinical microbiology laboratory.

Bacterial viability studies were performed on the Copan MSwab™ at two different ranges of temperature, 4 – 8°C and 20 – 25°C, corresponding to refrigerator and room temperature, respectively. Swabs accompanying each transport system were inoculated in triplicate with 100µl of specific concentrations of organism suspension. Swabs were then placed in their respective transport medium tubes and were held for 0 hrs, 24 hrs and 48 hrs. At the appropriate time intervals, each swab was processed according to the Roll-Plate or Swab Elution Method.

Additional bacterial viability studies for Staphylococcus aureus, ATCC 29213 and ATCC 6538, and Staphylococcus aureus (Methicillin resistant) ATCC 43300 and ATCC 700698 were performed on the Copan MSwab™ at two different ranges of temperature, 4 – 8°C and 20 – 25°C, corresponding to refrigerator and room temperature, respectively.
Swab accompanying the transport system was inoculated in triplicate with 100µl of specific concentrations of organism suspension.
Swabs were then placed in their respective transport medium tubes and:
For studies performed at 4 – 8°C inoculated MSwab™ tubes were held for 0 hrs, 10 days and 14 days. At the appropriate time intervals, each MSwab™ was processed according to the Roll-Plate Method.
For studies performed at 20 – 25°C inoculated MSwab™ tubes were held for 0 hrs and 72 hrs. At the appropriate time intervals, each MSwab™ was processed according to the Roll-Plate Method.

Bacterial overgrowth studies were performed on the Copan MSwab™ at 4 – 8°C, corresponding to refrigerator temperature. Swabs accompanying each transport system were inoculated in triplicate with 100µl of specific concentrations of organism suspension. Swabs were then placed in their respective transport medium tubes and were held for 0 hrs and 48 hrs. At the appropriate time intervals, each swab was processed according to the Roll-Plate Method.
Bacterial overgrowth studies were performed using Pseudomonas aeruginosa.

Viral viability studies were performed using HSV 1 and HSV 2. Swabs accompanying each transport system were directly inoculated in triplicate with 100µl of organisms suspension. Swabs were then placed in their respective transport medium tubes and were held for 0, 24 and 48 hours at both 4°C and room temperature (20-25°C). At the appropriate time interval, each swab was vortexed, removed from its transport medium tube and then 200µl aliquots of this suspension was inoculated into shell vials. All cultures were processed by standard laboratory culture technique and examined after a specified incubation time. Organism viability was determined by fluorescing foci counts.

Organisms evaluated were:

Herpes Simplex Virus Type 1 (HSV 1)	ATCC VR-539
Herpes Simplex Virus Type 2 (HSV 2)	ATCC VR-734.

In accordance with Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A, viability performance is measured for each test organism at the 48 hrs time point and compared with the acceptance criteria.

In both the Roll-Plate and Swab Elution viability performance studies, Copan MSwab™ System was able to maintain acceptable recovery of all organisms evaluated at both refrigerator (4 – 8ºC) and room temperature (20 – 25ºC). Acceptable recovery for the Roll-Plate Method is defined as ≥5 CFU following the specified holding time from the specific dilution that yielded zero-time plate counts closest to 300 CFU. Acceptable recovery for the Swab Elution Method is defined as no more than a 3 log10 (1 x 10^3 +/- 10%) decline in CFU between the zero-time CFU count and the CFU of the swabs after the specified holding time.

Additional time-points were tested for Staphylococcus aureus, ATCC 29213 and ATCC 6538, and Staphylococcus aureus (Methicillin resistant) ATCC 43300 and ATCC 700698.
In the Roll-Plate viability performance studies, Copan MSwab™ System was able to maintain acceptable recovery of all organisms evaluated at both refrigerator (4 – 8ºC) for 14 days and room temperature (20 – 25ºC) for 72 hrs. Acceptable recovery for the Roll-Plate Method is defined as ≥5 CFU following the specified holding time from the specific dilution that yielded zero-time plate counts closest to 300 CFU.
Viability performance studies also include an assessment of bacterial overgrowth at refrigerated temperatures (4 – 8ºC). For the Swab Elution Method, an overgrowth assessment is made on all bacteria species tested at the 48 hrs holding time point. Overgrowth assessment using the Swab Elution Method is defined as

greater than 1 log10 increase in CFU between the zero-time CFU count and the holding time point. For the Roll-Plate Method, an overgrowth assessment is made with a separate analysis in which swabs are dosed with 100µl containing 10^2 CFU of Pseudomonas aeruginosa culture. Overgrowth under these conditions is defined as greater than 1 log10 increase in CFU between zero-time CFU and the 48 hrs holding time point.
Copan MSwab™ System demonstrated no overgrowth based on the acceptance criteria described in Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A.

Copan MSwab™ System was able to maintain the viability of the following organisms for at least 48 hours at both room temperature (20-25ºC) and in the refrigerator (2-8ºC) under the test conditions described above: Herpes Simplex Virus Type 1, Herpes Simplex Virus Type 2.

Nucleic Acids preservation

Specimens collected using MSwab™ to be analyzed with NAAT should be processed within14 days when stored at room temperature (20 – 25°C), within 21 days when stored at 4°C and within 6 months when stored at -20°C.
Performance testing with Copan MSwab™ was conducted using laboratory strains suspensions spiked onto the FLOQSwab associated to the medium. Tested strains include: B. pertussis ATCC 8467, S. aureus (methicillin resistant) ATCC 43300, E. coli O157-H7 ATCC 700728, S. tiphimurium ATCC 14028, C. difficile ATCC 9689, Influenza A virus ATCC VR-822, Influenza B virus ATCC VR 786, Neisseria gonorrhoeae ATCC 43069 and Chlamydia trachomatis ATCC VR880.
Performance testing was not conducted using human specimens or human matrixes.

Results obtained will largely depend on proper and adequate specimen collection, as well as timely transport and processing in the laboratory.

Sistema di raccolta, conservazione e trasporto «Copan MSwab™» per applicazioni molecolari e coltura- Foglietto illustrativo e Guida all'uso

Vedi glossario dei simboli alla fine del foglietto illustrativo

USO PREVISTO

Il sistema di raccolta, trasporto e conservazione MSwab™ viene utilizzato per la raccolta e il trasporto di campioni clinici dal sito di prelievo al laboratorio di analisi. In laboratorio, i campioni MSwab™ possono essere analizzati mediante procedure cliniche standard per :

- la coltura batterica di organismi gram-positivi aerobi e anaerobi facoltativi
- la coltura di virus HSV 1 e HSV 2
- la ricerca di acidi nucleici di batteri e virus

SOMMARIO E PRINCIPI

Una delle procedure di routine nella diagnosi delle infezioni batteriche implica la raccolta e il trasporto in sicurezza dei campioni prelevati con tamponi. Ciò può essere ottenuto con l'uso di Copan MSwab™ che è un sistema di raccolta, trasporto e conservazione. Copan MSwab™ incorpora un terreno di trasporto e conservazione concepito per mantenere la vitalità dei batteri gram-positivi aerobi e anerobi facoltativi, HSV 1 and HSV 2 durante il trasporto fino al laboratorio di analisi.
Copan MSwab™ conserva gli acidi nucleici di agenti patogeni da identificare con tecniche di amplificazione molecolare (NAAT).

Il sistema di raccolta, trasporto e conservazione Copan MSwab™ viene fornito in tre formati diversi:
a) Formato kit di raccolta. Ciascun kit di raccolta consiste di una confezione contenente una provetta con tappo a vite, con fondo conico contenente 1 ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab™, nonché una busta sterile pelabile contenente un tampone FLOQSwab™ per raccolta di campioni con un'estremità ricoperta di fibra di nylon.
b) Formato solo provetta. Una provetta con tappo a vite, con fondo conico contenente 1 ml o 2 ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab™.
c) Formato kit di raccolta con tampone di pulizia. Ciascun kit di raccolta consiste di una confezione contenente una provetta con tappo a vite, con fondo conico contenente 2 ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab™, nonché una busta sterile pelabile contenente un tampone FLOQSwab™ per raccolta campioni con un'estremità ricoperta di fibra di nylon, ed una busta sterile pelabile contenente un tampone di pulizia con punta più larga in fibra avvolta per la rimozione del muco vaginale in eccesso.

Una volta raccolto il campione sul tampone, questo deve essere inserito immediatamente nella provetta MSwab™ per il trasporto. I campioni raccolti tramite MSwab™ da analizzare con tecniche di coltura batterica o virus devono essere trasportati direttamente al laboratorio, preferibilmente entro 2 ore dalla raccolta (1, 2, 7) al fine di mantenere la vitalità ottimale dei microrganismi. Se la consegna o l'analisi immediate vengono ritardate, i campioni devono essere refrigerati a 4 – 8º C o conservati a temperatura ambiente (20 – 25° C) e analizzati entro 48 ore. Gli studi sulla vitalità batterica di Staphylococcus aureus, ATCC 29213 e ATCC 6538, e di Staphylococcus aureus (meticillina resistente) ATCC 43300 e ATCC 700698 dimostrano che la vitalità dei microrganismi testati perdura fino a 14 giorni se in ambiente refrigerato (4 – 8° C) o per 72 ore a temperatura ambiente (20 – 25° C). Degli studi scientifici indipendenti sui sistemi di trasporto dei tamponi dimostrano che per alcuni batteri la vitalità è maggiore se vengono sottoposti a refrigerazione a confronto della temperatura ambiente (12 – 21). Se i campioni virali devono essere congelati, devono essere congelati a -70ºC.
I campioni raccolti tramite MSwab™ per la ricerca di acidi nucleici batterici o virali devono essere analizzati entro 14 giorni se conservati a temperatura ambiente (20-25°C), entro 21 giorni se conservati a 4°C e entro 6 mesi se conservati a -20°C.

REAGENTI

Formulazione del terreno di trasporto MSwab™

TRIS HCl
EDTA
TRIS Base
Dimetilsolfossido (DMSO)
Sieroalbumina bovina
Acqua distillata

PRECAUZIONI

1. Questo prodotto è destinato esclusivamente all'uso diagnostico in vitro.
2. Adottare le precauzioni relative al rischio biologico e le tecniche di asepsi approvate. Deve essere usato solo da personale formato e qualificato.
3. Tutti i campioni, e i materiali usati per processarli, devono essere considerati potenzialmente infettivi e devono essere manipolati con modalità che prevengano l'infezione del personale di laboratorio. Dopo l'uso, sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico inclusi i campioni, i recipienti e i terreni. Osservare le altre raccomandazioni relative al Livello 2 di biosicurezza emesse dal CDC (31, 32, 33, 34).
4. Le istruzioni devono essere lette e seguite con cura.

CONSERVAZIONE

Il prodotto è pronto all'uso e non ha bisogno di ulteriore preparazione. Deve essere conservato nel suo contenitore originale a 5 – 25° C fino al momento dell'uso. Non surriscaldare. Non incubare né congelare prima dell'uso. La conservazione non corretta avrà come conseguenza la perdita di efficacia. Non usare dopo la data di scadenza, che è chiaramente stampata sul contenitore esterno nonché su ciascuna unità di raccolta e sull'etichetta della provetta di trasporto del campione.

DETERIORAMENTO DEL PRODOTTO

Il Copan MSwab™ non deve essere usato se (1) vi sono evidenze di danneggiamento o di contaminazione del prodotto, (2) vi sono evidenze di perdite, (3) la data di scadenza è superata, (4) la confezione del tampone è aperta, (5) vi sono altri segni di deterioramento.

RACCOLTA, CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEI CAMPIONI

I campioni prelevati per analisi microbiologiche che prevedano l'isolamento di batteri o di virus devono essere raccolti e maneggiati seguendo le linee guida e i manuali pubblicati (7, 8, 4).

Al fine di mantenere la vitalità ottimale dei microrganismi e l'integrità degli acidi nucleici, trasportare i campioni raccolti con l'uso di MSwab™ direttamente al laboratorio, preferibilmente entro 2 ore dalla raccolta (1, 2, 7). Se la consegna o l'analisi immediate vengono ritardate, i campioni devono essere refrigerati a 4 – 8º C o conservati a temperatura ambiente (20 – 25° C) e analizzati entro 48 ore. Gli studi della vitalità batterica di Staphylococcus aureus, ATCC 29213 e ATCC 6538, e di Staphylococcus aureus (meticillina resistente) ATCC 43300 e ATCC 700698 dimostrano che la vitalità dei microrganismi testati si mantiene fino a 14 giorni se in ambiente refrigerato (4 – 8° C) o per 72 ore a temperatura ambiente (20 – 25° C). Se i campioni virali devono essere congelati, devono essere congelati a -70º C.
I campioni raccolti tramite MSwab™ per la ricerca di acidi nucleici batterici o virali devono essere analizzati entro 14 giorni se conservati a temperatura ambiente

(20-25°C), entro 21 giorni se conservati a 4°C e entro 6 mesi se conservati a -20°C.

I requisiti specifici di spedizione e di manipolazione dei campioni devono essere pienamente conformi alle normative statali e federali (34, 35, 36, 37). La spedizione di campioni all'interno di istituti medici deve essere conforme alle linee guida interne dell'istituto. Tutti i campioni devono essere sottoposti ad analisi non appena vengono ricevuti dal laboratorio.

MATERIALI FORNITI
Nella confezione per la vendita sono contenute cinquanta (50) unità di raccolta MSwab™, e in uno scatolone ne sono contenute 6 x 50 unità.

Il sistema di raccolta, trasporto e conservazione Copan MSwab™ viene fornito in tre formati diversi:
a) Formato kit di raccolta. Ciascun kit di raccolta consiste di una confezione contenente una provetta con tappo a vite, con fondo conico contenente 1 ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab™, nonché una busta sterile pelabile contenente un tampone FLOQSwab™ per raccolta campioni con un'estremità floccata con fibra di nylon.
b) Formato solo provetta. Una provetta con tappo a vite in plastica con fondo conico contenente 1 ml o 2 ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab™.
c) Formato kit di raccolta con tampone di pulizia. Ciascun kit di raccolta consiste di una confezione contenente una provetta con tappo a vite, con fondo conico contenente 2 ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab™, nonché una busta sterile pelabile contenente un tampone FLOQSwab™ per raccolta campioni con un'estremità ricoperta di fibra di nylon, ed una busta sterile pelabile contenente un tampone di pulizia con punta più larga in fibra avvolta per la rimozione del muco vaginale in eccesso.

Esistono due tipi di tamponi per la raccolta dei campioni: un tampone di dimensioni standard con punta floccata in nylon destinato al campionamento in gola, vagina, ferite, retto e feci; un tampone pernasale con punta floccata in nylon per la raccolta dalla nasofaringe. Tutti i tamponi floccati forniti con MSwab™ hanno un punto di rottura sull'asta del tampone, contrassegnato da una linea colorata. Dopo la raccolta del campione dal paziente, il punto di frattura pre-stampato facilita la rottura dell'applicatore nella provetta contenente il terreno di trasporto MSwab™.
La particolare conformazione interna dei tappi delle provette, a forma di imbuto, permette inoltre l'ancoraggio dell'asta del tampone dopo la rottura. Avvitando il tappo sulla provetta l'estremità dello stelo viene infatti spostata nella cavità del tappo. Quando la provetta viene aperta nel laboratorio di analisi l'applicatore rimane attaccato al tappo e l'operatore può agevolmente togliere il tampone dalla provetta ed eseguire le analisi microbiologiche utilizzando il tappo come manico.
Il tappo con la particolare caratteristica di ancoraggio dell'asta non è invece previsto per i tamponi pernasali (6E013N) che, essendo molto flessibili, non potrebbero essere fermamente bloccati all'interno della cavità.

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI
Materiali adatti all'isolamento e alla coltura di batteri aerobi e anaerobi facoltativi.
Tra tali materiali citiamo piastre o provette di coltura e sistemi di incubazione. Per i protocolli raccomandati relativi alle tecniche di coltura e identificazione dei batteri aerobi e anaerobi facoltativi da tamponi per campioni clinici si rimanda l'utente ai manuali di laboratorio (2, 4).
Materiali adatti all'isolamento, alla differenziazione e alla coltura di virus. Questi materiali includono linee cellulari per la coltura di tessuti, terreno di coltura per tessuti, sistemi di incubazione e strumenti di lettura. Fare riferimento alle referenze appropriate per i protocolli raccomandati per l'isolamento e l'identificazione di virus (1, 7).
Materiali adatti all'estrazione e all'amplificazione di acidi nucleici per test di biologica molecolare. Blocco riscaldante e centrifuga per metodi di estrazione rapida. Fare riferimento ai manuali di laboratorio di riferimento per l'identificazione e l'amplificazione di acidi nucleici in campioni clinici da tampone.

Nel caso di metodi di estrazione rapida, si suggerisce di trasferire l'appropriata aliquota di MSwab™ (riferirsi al paragrafo Trattamento dei campioni MSwab™ per analisi molecolari in laboratorio, Metodo B) in provette Copan con biglie in vetro (codice disponibile separatamente 2E013S50)

ISTRUZIONI PER L'USO
Il Sistema di raccolta, conservazione e trasporto Copan MSwab™ è disponibile nelle configurazioni prodotto specificate nella tabella seguente.

Tabella 1

N° di catalogo	Descrizione Prodotti Copan MSwab™	Contenuto confezioni
6E012N	Confezione monouso per raccolta di campioni contenente: - Provetta 12 x 80 mm con tappo a vite contenente 1 ml di Terreno di trasporto e conservazione MSwab™. - Un tampone FLOQSwab di dimensioni standard con punta floccata in nylon, sterile e confezionato singolarmente.	50 unità /scatola 6x50 unità/ cartone
6E013N	Confezione monouso per raccolta di campioni contenente: - Provetta 12 x 80 mm con tappo a vite contenente 1 ml di Terreno di trasporto e conservazione MSwab™. - Un tampone FLOQSwab pernasale con punta floccata in nylon, sterile e confezionato singolarmente.	50 unità /scatola 6x50 unità/ cartone
6E011N	Provetta singola per trasporto e conservazione: - 1 ml di Terreno di trasporto e conservazione MSwab™ in provetta 12 x 80 mm con fondo conico e tappo a vite	50 unità /scatola 6x50 unità/ cartone
6U019N	Provetta singola per trasporto e conservazione: - 2 ml di Terreno di trasporto e conservazione MSwab™ in provetta 12 x 80 mm con fondo conico e tappo a vite	50 unità /scatola 6x50 unità/ cartone
6E028N.MER	Confezione monouso per raccolta di campioni contenente: - Provetta 12 x 80 mm con tappo a vite contenente 2 ml di Terreno di trasporto e conservazione MSwab™. - Un tampone FLOQSwab di dimensioni standard con punta floccata in nylon, sterile e confezionato singolarmente. -Un tampone in fibra avvolta a punta larga, sterile e confezionato singolarmente	50 unità /scatola 6x50 unità/ cartone

Sono disponibili altre referenze prodotto. Per aggiornamenti visitare il nostro sito web: www.copanflock.com

Raccolta dei campioni

La corretta raccolta dei campioni dal paziente è estremamente importante perché l'isolamento e l'identificazione degli organismi infettanti avvengano con successo. Per istruzioni più dettagliate sulle procedure di raccolta consultare i manuali di riferimento pubblicati in materia (7, 2,).

Non utilizzare il terreno MSwab™ per umettare o bagnare il tampone di prelievo prima della raccolta del campione biologico o per risciacquare o irrigare la zona di prelievo.

Per i codici MSwab™ 6E012N e 6E013N:

1. Aprire la confezione del kit e rimuovere la provetta di terreno di trasporto e la busta interna contenente il tampone sterile (vedi Figura 1).
2. Rimuovere il tampone di prelievo dalla busta pelabile e usarlo per raccogliere il campione clinico. L'operatore deve toccare l'applicatore del tampone solo al di sopra della linea di rottura colorata, come illustrato nella Figura 1, che è all'estremità opposta della punta in nylon floccata. L'operatore non deve toccare mai, nel corso della manipolazione del tampone, la zona al di sotto della linea di rottura (la zona che va dalla linea fino alla punta floccata in nylon del tampone) dal momento che ciò provocherebbe la contaminazione dell'asta dell'applicatore e conseguentemente della coltura.
3. Prelevare il campione dal paziente.
4. Svitare e togliere il tappo dalla provetta MSwab™ assicurandosi di non far fuoriuscire il terreno di trasporto.
5. Inserire il tampone nella provetta finché il punto di frattura segnato in rosso non si trova al livello dell'imboccatura della provetta.
6. Piegare e rompere il tampone in corrispondenza del punto di frattura marcato in rosso come mostrato in Figura 1 e avendo cura di tenere la provetta lontana dal viso.
7. Eliminare il manico rotto dell'astina del tampone in un contenitore autorizzato per lo smaltimento dei rifiuti sanitari.
8. Rimettere il tappo sulla provetta e richiudere bene.
9. Riportare i dati del paziente sull'etichetta della provetta o applicare l'etichetta identificativa della paziente. Inviare il campione al laboratorio di analisi.

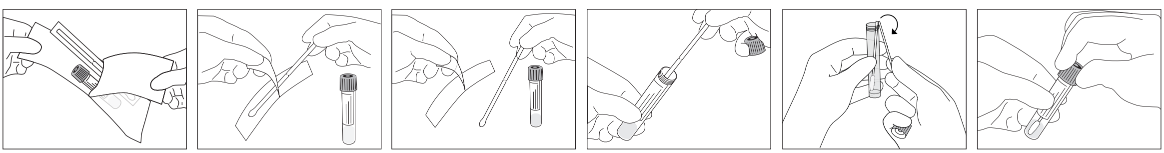
Per il codice MSwab™ 6E028N.MER:

1. Aprire la confezione del kit, rimuovere la provetta di terreno di trasporto e le due buste interne, una contenete il tampone sterile, ed una contenente il tampone di pulizia "Cleaning Swab" con punta larga
2. L'utilizzo del tampone di pulizia è consigliato solo in caso di procedura di raccolta di campione endocervicale. Il tampone di pulizia (tampone con punta larga in fibra avvolta)- vedere Figura 1, è utilizzato solo per rimuovere l'eccesso di muco presente a livello dell'apertura della cervice uterina e le mucose circostanti. **Dopo l'utilizzo, eliminare il tampone.**
   In caso di procedure di raccolta di campioni diversi da campioni endocervicali, il tampone di pulizia largo non deve essere utilizzato e deve essere eliminato.
3. Per il prelievo di campione clinico seguire le istruzioni riportate per i codici 6E012N e 6E013N dal punto 2 in poi.

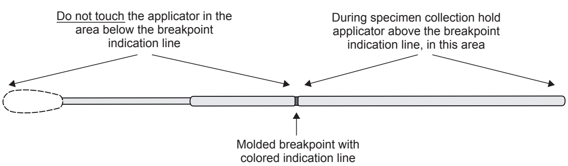
Per i codici MSwab™ 6E011N e 6U019N:

1. Dopo aver prelevato il campione dal paziente tramite un tampone, svitare e togliere il tappo dalla provetta MSwab™ assicurandosi di non far fuoriuscire il terreno di trasporto.
2. Inserire il tampone nella provetta.
3. Se il tampone presenta un punto di frattura, piegare e rompere il tampone in corrispondenza del punto di frattura avendo cura di tenere la provetta lontana dal viso.
4. Rimettere il tappo sulla provetta e richiudere bene.
5. Riportare i dati del paziente sull'etichetta della provetta o applicare l'etichetta identificativa della paziente. Inviare il campione al laboratorio di analisi.

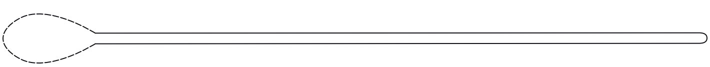
Fig 1. Tampone per raccolta con la linea di indicazione di rottura e zona per la manipolazione dell'applicatore



COLLECTION SWAB



CLEANING SWAB



L'operatore deve toccare solo la parte dell'asta dell'applicatore del tampone al di sopra della linea di indicazione del punto di rottura come mostrato nella Fig. 1. Dopo aver prelevato il campione dal paziente tramite un tampone, rompere l'asta dell'applicatore del tampone all'altezza della linea di rottura colorata, nella provetta MSwab™ contenente il terreno di trasporto MSwab™. L'operatore deve quindi gettare la parte del tampone così staccata in un contenitore per rifiuti sanitari approvato. Il tappo a vite della provetta viene quindi riposizionato e chiuso con forza. L'azione di avvitamento del tappo sulla provetta spinge l'estremità dell'asta dell'applicatore in un ricettacolo a forma di imbuto nel tappo (vedi Fig. 2). Questa cavità stampata a forma di imbuto cattura l'estremità dell'asta dell'applicatore rotta e la blocca per frizione.

Fig 2. Ancoraggio dell'asta spezzata del tampone da parte del tappo della provetta MSwab™



La Funzione Tappo Prensile è garantita solo con l'uso del Tampone Floccato Copan di dimensioni standard.

Nel laboratorio di analisi, quando il tappo MSwab™ viene svitato e rimosso, l'asta dell'applicatore del tampone è connessa al tappo in modo sicuro. Questa funzione permette all'operatore di rimuovere il tampone facilmente e di effettuare le varie analisi microbiologiche usando il tappo della provetta come un manico per impugnare e manipolare il tampone.

NOTA SULLA FUNZIONE DI CATTURA DEL TAPPO:
Il tappo è sagomato in modo tale da permettere l'ancoraggio quando viene utilizzato e spezzato all'interno della provetta un tampone floccato Copan di dimensione regolare. Se si usa un tampone pernasale la funzione di cattura non è garantita.
Il tampone pernasale (6E013N) deve essere attentamente rimosso dalla provetta immediatamente prima di procedere con l'analisi del campione. Questa precauzione permette di evitare la caduta accidentale del campione dal tappo.

Processamento dei campioni MSwab™ in laboratorio – Batteriologia

I campioni MSwab™ devono essere processati ai fini della coltura batteriologica con l'uso dei terreni di coltura e le tecniche di laboratorio raccomandati, che dipendono dal tipo di campione e dall'organismo sottoposto ad analisi. Per i terreni e le tecniche di coltura per l'isolamento e l'identificazione di batteri provenienti dai campioni dei tamponi clinici, fare riferimento ai manuali e alle linee guida pubblicati relativi alla microbiologia (1-6).
Le analisi sulle colture di campioni da tamponi per la ricerca della presenza di batteri implicano l'uso di routine di terreno di coltura agar solido in piastre Petri. La procedura di inoculazione dei campioni MSwab™ su agar solido in piastre Petri è la seguente.

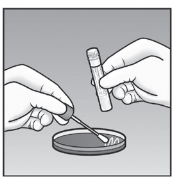
Nota: Nel corso della manipolazione di campioni clinici, indossare guanti in lattice e tutti gli altri dispositivi di protezione necessari. Osservare le altre raccomandazioni relative al Livello 2 di biosicurezza emesse dal CDC (31, 32, 33, 34).

Vortexare la provetta MSwab™ contenente il campione del tampone per 5 secondi per distaccare il campione dalla punta del tampone, e disperdere e sospendere in modo uniforme nel terreno di coltura il campione paziente.

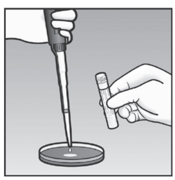
1. Svitare il tappo MSwab™ e rimuovere l'applicatore.
2. Rollare la punta del tampone MSwab™ sulla superficie di un quadrante della piastra contenente il terreno di coltura per effettuare l'inoculo primario.
3. Se è necessario sottoporre a coltura il campione del tampone in una seconda piastra di coltura, riportare l'applicatore MSwab™ per due secondi nella provetta contenente il terreno di trasporto, per assorbire e ricaricare la punta del tampone con la sospensione di terreno di coltura / campione paziente e ripetere il Passo n° 3.
4. Se è necessario inoculare ulteriori piastre di coltura, riportare l'applicatore MSwab™ nella provetta contenente il terreno di trasporto, e ricaricare la punta del tampone con la sospensione di terreno di coltura / campione paziente prima di inoculare ciascuna piastra aggiuntiva.

La procedura sopra descritta utilizza il tampone MSwab™ come un'ansa per inoculazione per trasferire la sospensione del campione del paziente nel terreno di trasporto fino alla superficie della piastra di coltura, creando l'inoculo primario (vedi Fig. 3).
In alternativa, l'operatore può vortexare la provetta MSwab™ con il tampone al suo interno per 5 secondi, e poi trasferire 100µl di sospensione sulle singole piastre di coltura tramite una pipetta volumetrica con punta sterile. Per strisciare l'inoculo primario del campione del paziente sulla superficie della piastra seguire le procedure standard di laboratorio (vedi Fig 4).

Fig 3. Procedure di inoculazione dei campioni MSwab™ su agar solido in piastre Petri

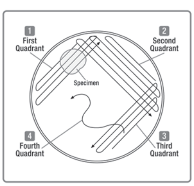


1. Uso del tampone per inoculare il campione



2. Uso del pipettatore e dei puntali sterili per inoculare 100µl di campione.
Questa procedura di inoculazione deve essere considerata preferibile se il campione clinico viene analizzato anche con tecniche NAAT.

Fig 4. Procedura per strisciare i campioni MSwab™ su piastre Petri per l'isolamento primario (33)



Effettuare un inoculo primario di campione MSwab™ sulla superficie di una piastra di coltura su agar nel primo quadrante.

Usare un'ansa sterile per batteriologia per strisciare l'inoculo primario sulla superficie del secondo, terzo e quarto quadrante della piastra di coltura su agar.

Preparazione di strisci con colorazione di Gram di campioni MSwab™

L'analisi di laboratorio dei campioni su tamponi clinici raccolti da alcune parti del paziente può includere di routine l'esame microscopico di preparazioni colorate ("strisci diretti") con l'uso della procedura della colorazione di Gram. Ciò può fornire informazioni di grande valore ai medici che trattano pazienti con malattie infettive (22). Sono molti i casi in cui una colorazione di Gram può essere d'aiuto nell'effettuare una diagnosi (23, 27).
La colorazione di Gram può anche contribuire a valutare la qualità dei campioni e contribuire alla selezione dei terreni di coltura, in particolare in caso di flora mista. I vetrini da microscopio dei campioni paziente trasportati nel sistema di trasporto Copan MSwab™ possono essere preparati per l'analisi della colorazione di Gram, come descritto più oltre, campionando un'aliquota della sospensione vortexata del tampone (3, 4). I campioni trasportati con il terreno di eluizione MSwab™ rappresentano una sospensione omogenea in fase liquida. Possono essere strisciati in modo uniforme, cosa che permette una lettura chiara e semplice.

Nota: Nel corso della manipolazione di campioni clinici, indossare guanti in lattice e tutti gli altri dispositivi di protezione necessari. Osservare le altre raccomandazioni relative al Livello 2 di biosicurezza emesse dal CDC (31, 32, 33, 34).

1. Prendere un vetrino da microscopio pulito, posizionarlo su una superficie piana e inscrivere un'area usando una punta diamantata o strumento similare per identificare la posizione dell'inoculo del campione. Nota: può essere usato anche un vetrino con pozzetto premarcato da 20 mm.

2. Vortexare la provetta MSwab™ contenente il campione del tampone per 5 secondi, per distaccare il campione dalla punta del tampone e disperdere e sospendere in modo uniforme nel terreno di coltura il campione paziente.

3. Svitare il tappo MSwab™ e, usando una pipetta sterile, trasferire 1 – 2 gocce di sospensione del campione sulla superficie inscritta del vetrino. Nota: 30 µl circa costituiscono una quantità di liquido adatta ad un pozzetto di 20 mm di diametro premarcato.
In caso di campioni densi o contenenti sangue, deve essere adottata una cura particolare per spandere finemente il campione sul vetrino. I batteri sono difficili da rilevare se il campione riporta molti globuli rossi e detriti.

4. Attendere che il campione sul vetrino secchi all'aria a temperatura ambiente, o porre il vetrino in un riscaldatore elettrico o in un incubatore per vetrini a temperatura non superiore a 42° C.

5. Fissare gli strisci con metanolo. Il fissaggio con metanolo è raccomandato in quanto previene la lisi dei globuli rossi, evita che tutte le cellule ospiti si danneggino e dà come risultato uno sfondo più pulito (3, 4, 22).

6. Per effettuare la colorazione di Gram seguire le linee guida e i manuali di laboratorio di riferimento. Se vengono usati dei reagenti per colorazione di Gram commerciali, è importante rispettare le istruzioni nel foglietto illustrativo del produttore per la procedura del test di performance.

Per ulteriori informazioni o guida nella preparazione dei vetrini dei campioni per l'analisi microscopica, per informazioni sulle procedure per la colorazione di Gram e per l'interpretazione e il reporting delle analisi al microscopio, consultare i manuali di laboratorio di riferimento pubblicati (1 - 5, 22 - 27).

Processamento dei campioni MSwab™ in laboratorio – Virologia

La sopravvivenza di HSV 1 e di HSV 2 dipende da molti fattori, incluso il tipo e la concentrazione del microrganismo, la durata del trasporto e la temperatura di conservazione. Al fine di mantenere la vitalità ottimale, i campioni devono essere trasportati direttamente al laboratorio, preferibilmente entro 2 ore dalla raccolta (1, 2, 7, 29). Se la consegna o l'analisi immediate vengono ritardate, i campioni raccolti con l'uso del Sistema di raccolta, trasporto e conservazione MSwab™ devono essere refrigerati a 4–8º C o conservati a temperatura ambiente (20 – 25° C) e processati entro 48 ore. Se i campioni devono essere congelati, devono essere portati a -70º C.

Negli studi di simulazione di trasporto e conservazione, il Sistema Copan MSwab™ ha dimostrato di essere in grado di mantenere la vitalità di HSV 1 e di HSV 2 in condizioni di temperatura refrigerata (4-8° C) e a temperatura ambiente (20-25° C) fino a 48 ore. Sulla base degli studi sulle performance effettuati da Copan e da pubblicazioni scientifiche indipendenti, la vitalità di alcuni microrganismi è superiore a temperatura refrigerata a fronte di quella a temperatura ambiente (12 – 21, 29).

I campioni MSwab™ devono essere processati ai fini della coltura virologica con l'uso delle linee cellulari e le tecniche di laboratorio raccomandate, che dipendono dal tipo di campione e dall'organismo sottoposto ad analisi. Per le shell vials e le tecniche raccomandate per l'isolamento e l'identificazione di HSV 1 e HSV 2 dai campioni dei tamponi clinici, fare riferimento alle linee guida e ai manuali di virologia pubblicati (1 – 6, 29, 30).

Le analisi delle colture di campioni su tamponi per la presenza di HSV 1 e HSV 2 implica di routine l'uso di culture cellulari in shell vials. La procedura di inoculazione dei campioni MSwab™ nelle shell vials è descritta di seguito.

Nota: Nel corso della manipolazione di campioni clinici, indossare guanti in lattice e tutti gli altri dispositivi di protezione necessari. Osservare le altre raccomandazioni di BSL 2.

1. Vortexare la provetta MSwab™ contenente il campione del tampone per 5 secondi, per distaccare e disperdere il campione dalla punta del tampone e sospendere in modo uniforme nel terreno di coltura il campione del paziente.
2. Svitare il tappo MSwab™ e rimuovere il tampone.
3. Trasferire un volume di 200 µl della sospensione nella shell vial e procedere seguendo la procedura interna del laboratorio.

NOTA: I campioni di pazienti che possono contenere un'elevata carica di contaminazione batterica potrebbero richiedere l'aggiunta di antibiotici al terreno di mantenimento e coltura delle cellule.

4. Procedere con le tecniche appropriate di rilevamento dei virus.

Trattamento dei campioni MSwab™ per analisi molecolari in laboratorio

Per i campioni sui quali è prevista la ricerca di acidi nucleici si consiglia l'analisi immediata dopo l'arrivo nel laboratorio. In caso di ritardo fare riferimento alle relative condizioni di conservazione.

NOTA: Per la manipolazione dei campioni clinici utilizzare guanti in lattice ed altri mezzi di protezione generale. Rispettare il livello di biosicurezza (BSL) 2 stabilito dal CDC (31, 32, 33, and 34).
Nell'utilizzo di metodi molecolari prendere le precauzioni necessarie atte ad evitare il diffondersi della contaminazione. La separazione degli spazi di lavoro e un flusso di lavoro unidirezionale sono fondamentali per prevenire la contaminazione dell'amplicon (35).

La formulazione del terreno MSwab™ è stata sviluppata per essere compatibile con PCR Master Mix; questo rende l'MSwab™ idoneo per applicazioni dirette di amplificazione di acidi nucleici senza la necessità di un passaggio di estrazione standard e di purificazione.
Due metodiche differenti (A e B) possono essere applicate per il processamento dei campioni MSwab™:

A) Metodo di estrazione standard

1. Mixare la provetta MSwab™ in un vortex per 10 secondi, svitare il tappo e, tenendolo tra il pollice e l'indice, farlo ruotare per far fuoriuscire la maggior parte del fluido dalla punta.

NOTA: Il tappo con la particolare caratteristica di ancoraggio dell'asta non è invece previsto per i tamponi pernasali (6E013N) che, essendo molto flessibili, non potrebbero essere fermamente bloccati all'interno della cavità. In questo caso, dopo aver lasciato fuoriuscire il fluido dal puntale, estrarre l'applicatore dalla provetta utilizzando un paio di pinzette.

2. Eliminare il tampone e trasferire l'appropriato quantitativo di campione (es. 200 ul) in una provetta di estrazione seguendo le normali procedure di laboratorio.
3. Proseguire in accordo alle procedure di estrazione e amplificazione dei kit utilizzati

Il sistema MSwab™ è stato validato con i seguenti metodi di estrazione: membrana di gel-silice (Qiagen, Macherey & Nagel), biglie magnetiche (EasyMAG, Qiasymphony, Magnapure). Altre metodi di estrazioni sono applicabili previa validazione.

B) Metodo di estrazione rapida

Per la ricerca di contaminazioni virali, si consiglia un passaggio di shock termico per lisare i campioni.

1. Vortexare la provetta originale del campione MSwab™ per 10 secondi.

NOTA: Il tappo con la particolare caratteristica di ancoraggio dell'asta non è invece previsto per i tamponi pernasali (6E013N) che, essendo molto flessibili, non potrebbero essere fermamente bloccati all'interno della cavità

2. Utilizzando una micropipetta, trasferire 200 ul del campione MSwab™ in una microprovetta sterile contenente biglie di vetro (2E013S50: provetta Copan con biglie di vetro, disponibile separatamente) e vortexare per 10 secondi. Conservare il campione di MSwab™ originale per coltura o test aggiuntivi.
3. Riscaldare la microprovetta in un termostato impostato a 98°-100°C per almeno:
   - 3 minuti per Virus
   - 10 minuti per Batteri gram positivi
   - 5 minuti per batteri gram negativi
4. Raffreddare la provetta a temperature ambiente per 5 minuti
5. Centrifugare la microprovetta a 10000xg per 2 minuti per sedimentare i detriti cellulari
6. Trasferire un'aliquota del campione MSwab™ trattato nella master mix e procedere con il passaggio di amplificazione in accordo alla procedura del kit di amplificazione.

Il metodo di estrazione rapida descritto sopra è stato testato con R-Biopharm RIDA®GENE Real Time PCR kits, Seegene Anyplex FluA/B Typing Real Time detection kit e con Genesig Real Time PCR kits by Primer Design in comparazione con metodi di estrazione rapida. Altri metodi di amplificazione PCR sono applicabili previa validazione. I ceppi testati includono: B. pertussis (ATCC 8467), S. aureus (meticillina resistenti) (ATCC 43300), E. coli O157 H7 (ATCC 700728), S. tiphimurium (ATCC 14028), C. difficile (ATCC 9689), Influenza A virus (ATCC VR-822), Influenza B virus (ATCC VR 786), Neisseria gonorrhoeae (ATCC 43069) e Chlamydia trachomatis (ATCC VR880). I test non sono stati condotti utilizzando matrici di origine umana.

I risultati ottenuti dipendono ampiamente dall'adeguatezza delle operazioni di raccolta, trasporto ed analisi in laboratorio.

CONTROLLO QUALITÀ

Gli applicatori MSwab™ sono testati per garantire che non siano tossici per i batteri. Il terreno di trasporto e gli applicatori MSwab™ sono testati per garantire che non siano tossici per le linee cellulari usate per la coltura di HSV 1 e di HSV 2. Il terreno di trasporto MSwab™ è testato in merito alla stabilità del pH e per l'assenza di inibitori tramite tecniche di amplificazione diretta (9). L'MSwab™ è sottoposto a test di controllo qualità prima della commercializzazione in merito alla sua capacità di mantenere la vitalità di batteri aerobi Gram-positivi e anaerobi facoltativi e dei virus HSV a temperatura ambiente (20 – 25° C) per periodi specifici. Le procedure di controllo qualità dei dispositivi di trasporto microbiologico devono essere effettuate secondo i metodi di test descritti dal Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A e da altre pubblicazioni (9). Nel caso in cui vengano notati dei risultati di controllo qualità aberranti, i risultati paziente non devono essere riportati.

RESTRIZIONI

1. In laboratorio, nel corso della manipolazione di campioni clinici, indossare guanti in lattice e tutti gli altri dispositivi di protezione necessari. Nel corso della manipolazione o dell'analisi dei campioni paziente, rispettare il livello di biosicurezza 2 stabilito dal CDC (31, 32, 33, 34).
2. Le condizioni, la tempistica e il volume dei campioni raccolti per la coltura costituiscono variabili significative per l'ottenimento di risultati di coltura affidabili. Seguire le linee guida raccomandate per la raccolta dei campioni (7, 8, 4).
3. MSwab™ è destinato all'uso quale terreno di raccolta e trasporto per coltura di batteri Gram positivi aerobi e anaerobi facoltativi, virus HSV 1 e HSV 2 e per la ricerca di acidi nucleici di batteri e virus.
   L'MSwab™ non può essere usato come terreno di arricchimento, di selezione o differenziale.
4. Il terreno di coltura MSwab™ non contiene antibiotici. I campioni di pazienti che possono contenere un'elevata carica di contaminazione batterica potrebbero richiedere l'aggiunta di antibiotici al terreno di mantenimento e coltura delle cellule.
5. I test di performance di Copan MSwab™ sono stati effettuati utilizzando ceppi da laboratorio applicati su un tampone seguendo i protocolli di test descritti nei Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A Approved Standard (9). I test di performance non sono stati effettuati con l'uso di campioni umani.
6. I test di performance di Copan MSwab™ sono stati effettuati usando i tamponi floccati Copan.

AVVERTENZE

1. Per uso diagnostico in vitro.
2. Non risterilizzare i tamponi inutilizzati prima dell'uso.
3. Questo prodotto è esclusivamente monouso; il riutilizzo può causare rischio di infezione e/o di risultati inaccurati.
4. Non re-imballare.
5. Non impiegare per applicazioni diverse dall'utilizzo stabilito.
6. L'utilizzo del prodotto con un kit di diagnosi rapida o con strumenti diagnostici deve essere validato a priori dall'utente.
7. Non utilizzare in caso di evidenti segni di danneggiamento (es. punta o asta del tampone rotti).
8. Non forzare o premere in modo eccessivo nella fase di raccolta dei campioni dai pazienti, poiché ciò potrebbe provocare la rottura dell'asta del tampone.
9. Non utilizzare la stessa provetta per più di un paziente. Questo causa non corrette o scadenti diagnosi.
10. Accertarsi che il tappo a vite del MSwab™ sia fermamente chiuso prima di trasportare il campione.
11. Eliminare i reagenti non utilizzati, i rifiuti ed i campioni in accordo alla regolamentazione locale.
12. Evitare il contatto del terreno MSwab™ con la pelle e membrane mucose. Se il contatto avviene, risciacquare con abbondante acqua.
13. Non ingerire il terreno di trasporto.
14. Seguire attentamente le istruzioni d'uso. Il produttore declina ogni responsabilità derivante dall'utilizzo da parte di persone non qualificate o non autorizzate.
15. La manipolazione del prodotto deve essere effettuata esclusivamente da personale addestrato.
16. Si deve sempre presumere che tutti i campioni contengano microrganismi infetti, quindi si raccomanda la massima cautela. Dopo l'uso smaltire le provette ed i tamponi in conformità con la prassi di laboratorio relativa ai rifiuti infetti. Rispettare il livello di biosicurezza 2 stabilito dal CDC (31, 32, 33, 34).
17. Non utilizzare il terreno di trasporto MSwab™ per inumidire l'applicatore prima della raccolta, o per il risciacquo o il dosaggio sui siti di raccolta.

RISULTATI

I risultati ottenuti dipenderanno in gran parte dalla raccolta corretta e adeguata del campione, nonché dal tempestivo trasporto e processamento in laboratorio.

CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE

Recupero dei batteri

Le procedure di analisi impiegate per determinare le performance relative alla vitalità batterica sono state basate sui metodi di controllo qualità descritte nel testo Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A (9).

Il sistema MSwab™ è destinato unicamente alla raccolta di batteri Gram-positivi aerobi e anaerobi facoltativi e virus HSV1 e HSV2, quindi le sue applicazioni sul campo sono più ristrette di quelle di certi altri dispositivi. Per questo motivo gli studi di recupero di batteri sono stati effettuati nelle condizioni di trasporto e conservazione simulate così come descritte e definite in CLSI M40-A, Quality Control of Microbiological Transport Systems: Approved Standard e in essi sono stati inclusi i ceppi di batteri aerobi e anaerobi facoltativi Gram positivi dal Gruppo 1 del paragrafo 7.11.1 del documento CLSI M40-A, in particolare:

Streptococcus pyogenes	ATCC® 19615
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 6305
Pseudomonas aeruginosa	ATCC® BAA-427

Oltre a ciò, Copan ha incluso il test di ulteriori microrganismi aerobi e anaerobi facoltativi Gram positivi di rilevanza clinica non richiesti da CLSI M40-A.
Gli specifici ceppi batterici usati in questi studi sono elencati qui di seguito:

Enterococcus faecalis	ATCC® 29212
Staphylococcus epidermidis	ATCC® 12228
Staphylococcus aureus	ATCC® 29213
Streptococcus agalactiae (Group B Strep)	ATCC® 13813
Kocuria rhizophila	ATCC® 9341
Listeria monocytogenes	ATCC® 19114
Bacillus cereus	ATCC® 10876
Staphylococcus aureus (Methicillin resistant)	ATCC® 43300
Staphylococcus aureus	ATCC® 6538
Staphylococcus aureus (Methicillin resistant)	ATCC® 700698
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 49136

Tutte le colture batteriche erano di tipo ATCC (American Type Culture Collection) ed erano state ottenute per via commerciale.

La selezione di tali organismi riflette anche quei batteri aerobi e anaerobi facoltativi Gram positivi che normalmente si troverebbero sui campioni raccolti e analizzati in un tipico laboratorio di microbiologia clinica.

Gli studi sulla vitalità batterica sono stati effettuati sul Copan MSwab™ a due diverse gamme di temperatura, 4 – 8° C e 20 – 25° C, corrispondenti rispettivamente alla temperatura di refrigerazione e alla temperatura ambiente. I tamponi che accompagnavano ciascun sistema di trasporto erano stati inoculati in triplicato con 100µl di concentrazioni specifiche di sospensione di organismi. I tamponi erano stati quindi posti nelle rispettive provette con terreno di trasporto, e vi erano stati tenuti per 0 ore, 24 ore e 48 ore. Agli intervalli temporali appropriati, ciascun tampone era stato processato in base al metodo di Eluizione del tampone o del Roll-Plate.

Ulteriori studi sulla vitalità batterica di Staphylococcus aureus, ATCC 29213 e ATCC 6538, e di Staphylococcus aureus (meticillino resistente) ATCC 43300 e ATCC 700698 sono stati effettuati sul Copan MSwab™ su due diverse gamme di temperatura, 4 – 8° C e 20 – 25° C, corrispondenti rispettivamente alla temperatura di refrigerazione e alla temperatura ambiente.
I tamponi che accompagnavano ciascun sistema di trasporto erano stati inoculati in triplicato con 100µl di concentrazioni specifiche di sospensione di organismi.
I tamponi erano stati quindi posti nelle rispettive provette con terreno di trasporto e:
Per gli studi effettuati a 4 – 8° C, le provette MSwab™ inoculate erano state mantenute in tale stato per 0 ore, 10 giorni e 14 giorni. Agli intervalli temporali appropriati, ciascun MSwab™ era stato processato in base al metodo del Roll-Plate.
Per gli studi effettuati a 20 – 25° C, le provette MSwab™ inoculate sono state mantenute in tale stato per 0 ore e 72 ore. Agli intervalli temporali appropriati, ciascun MSwab™ è stato processato in base al metodo del Roll-Plate.

Gli studi sulla sovracrescita batterica sono stati effettuati sul Copan MSwab™ a 4 – 8° C, corrispondenti alla temperatura di refrigerazione. I tamponi che accompagnavano ciascun sistema di trasporto erano stati inoculati in triplicato con 100µl di concentrazioni specifiche di sospensione di organismi. I tamponi erano stati quindi posti nelle rispettive provette con terreno di trasporto, e vi erano stati tenuti per 0 ore e 48 ore. Agli intervalli temporali appropriati, ciascun tampone è stato processato in base al metodo del Roll-Plate.
Gli studi sulla sovracrescita batterica sono stati effettuati con l'uso di Pseudomonas aeruginosa.

Gli studi sulla vitalità virale sono stati effettuati con l'uso di HSV 1 e HSV 2. I tamponi che accompagnavano ciascun sistema di trasporto erano stati inoculati in triplicato con 100µl di concentrazioni specifiche di sospensione di organismi. I tamponi erano stati quindi posti nelle rispettive provette con terreno di trasporto, e vi erano stati tenuti per 0, 24 e 48 ore sia a 4° C che a temperatura ambiente (20-25° C). Agli intervalli temporali appropriati, ciascun tampone è stato vortexato, estratto dalla sua provetta con terreno di trasporto e quindi un'aliquota di 200µl di questa sospensione è stata inoculata in shell vials. Tutte le colture sono state processate con tecniche standard di coltura in laboratorio ed esaminate dopo un periodo di incubazione specifico. La vitalità degli organismi è stata determinata con la conta dei foci fluorescenti.

Sono stati sottoposti a valutazione i seguenti organismi:
Herpes Simplex Virus Type 1 (HSV 1) ATCC VR-539
Herpes Simplex Virus Type 2 (HSV 2) ATCC VR-734.

Conformemente al Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A, la performance della vitalità viene misurata per ciascun organismo sottoposto a test al punto 48 ore e comparato con il criterio di accettazione.

Negli studi di performance della vitalità sia in Roll-Plate che in Diluizione del tampone, il Sistema Copan MSwab™ è stato in grado di mantenere un recupero accettabile di tutti gli organismi valutati sia con refrigerazione (4 – 8º C) che a temperatura ambiente (20 – 25º C). Il recupero accettabile per il Metodo Roll-Plate è definito come ≥5 UFC dopo il tempo di conservazione specificato dalla specifica diluizione che originasse conte in piastra al tempo zero quanto più vicine possibile a 300 UFC. Il recupero accettabile per il Metodo di Eluizione del Tampone è definito come un declino non superiore a 3 log10 (1×10^3 +/- 10%) delle UFC tra il momento zero della conta delle UFC e le UFC dei tamponi dopo il tempo di conservazione specificato.

Ulteriori punti temporali sono stati testati per Staphylococcus aureus, ATCC 29213 e ATCC 6538, e per Staphylococcus aureus (meticillina resistente) ATCC 43300 e ATCC 700698.
Negli studi di performance della vitalità in Roll-Plate, il Sistema Copan MSwab™ è stato in grado di mantenere un recupero accettabile di tutti gli organismi valutato sia a temperatura refrigerata (4 – 8º C) per 14 giorni che a temperatura ambiente (20 – 25º C) per 72 ore. Il recupero accettabile per il Metodo Roll Plate è definito come ≥5 UFC dopo il tempo di conservazione specificato alla specifica diluizione che originassero conte in piastra al tempo zero quanto più vicine possibile a 300 UFC.

Gli studi di performance della vitalità includono anche una valutazione della sovracrescita batterica a temperatura refrigerata (4 – 8° C). Per il Metodo di Eluizione del Tampone, è stata effettuata una valutazione di sovracrescita su tutte le specie batteriche testate dopo 48 ore di conservazione. La valutazione della sovracrescita con l'uso del Metodo di Eluizione del Tampone è definito come un incremento maggiore di 1 log10 tra il tempo zero della conta delle UFC e il tempo di conservazione. Per il Metodo Roll-Plate, la valutazione della sovracrescita viene effettuata con un'analisi separata in cui i tamponi vengono dosati con 100µl contenenti 10^2 UFC di coltura di Pseudomonas aeruginosa. La sovracrescita in queste condizioni è definita come un incremento maggiore di 1 log10 delle UFC tra il tempo zero della conta delle UFC e il tempo di conservazione di 48 ore.
Il Sistema Copan MSwab™ non ha mostrato alcuna sovracrescita sulla base dei criteri di accettazione descritti nel Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A.

Il Sistema Copan MSwab™ è stato in grado di mantenere la vitalità dei seguenti organismi per almeno 48 ore sia a temperatura ambiente (20 – 25º C) che con refrigerazione (2 – 8º C) alle condizioni di test sopra descritte: Virus Herpes Simplex Tipo 1, Virus Herpes Simplex Tipo 2.

Mantenimento di acidi nucleici

I campioni raccolti utilizzando MSwab™ da analizzare con tecniche di amplificazione di acidi nucleici devono essere processati entro 14 giorni, quando conservati a temperatura ambiente (20-25°C), entro 21 giorni quando conservati a 4°C e entro 6 mesi se conservati a -20°C.
Test di performance con Copan MSwab™ sono stati condotti utilizzando sospensioni di ceppi di laboratorio depositati sul tampone FLOQSwab associato al terreno. I ceppi testati includono: B. pertussis ATCC 8467, S. aureus (meticillina resistente) ATCC 43300, E. coli O157-H7 ATCC 700728, S. tiphimurium ATCC 14028, C. difficile ATCC 9689, Influenza A virus ATCC VR-822, Influenza B virus ATCC VR 786, Neisseria gonorrhoeae (ATCC 43069) e Chlamydia trachomatis (ATCC VR880). Non sono stati condotti test di performance utilizzando campioni umani o matrici di origine umana.

I risultati ottenuti dipendono principalmente da un'appropriata e adeguata raccolta dei campioni, così come da un trasporto e processamento in laboratorio tempestivo.

Probenahme-, Aufbewahrungs- und Transportsystem „Copan MSwab™“ für Molekular- und Kulturanwendungen – Beipackzettel und Bedienungsanleitung

Siehe Symbolglossar am Ende des Beipackzettels

VORGESEHENE VERWENDUNG

Das Entnahme-, Aufbewahrungs- und Transportsystem MSwab™ wird für die Entnahme und den Transport klinischer Proben vom Probenahmeort zum Analyselabor verwendet. Nach dem Eintreffen im Labor können die MSwab™-Proben mittels folgender klinischer Standardverfahren analysiert werden:

- Bakterienkultur von grampositiven aeroben Organismen und fakultativen Anerobier
- Kultur von HSV 1- und HSV 2-Viren.
- dem Nachweis von Nukleinsäuren von Bakterien und Viren.

ZUSAMMENFASSUNG UND GRUNDLAGEN

Eines der Routineverfahren bei der Diagnose von bakteriellen Infektionen sieht die sichere Probenahme und Transport der Tupfer vor. Dies kann durch den Einsatz von Copan MSwab™ erfolgen, welches ein Probenahme-, Aufbewahrungs- und Transportsystem ist. Copan MSwab™ beinhaltet ein Tranport- und Nährboden, der entwickelt wurde, um die Vitalität der grampositiven aeroben Bakterien und fakultativen Anerobier, sowie HSV 1 und HSV 2 Viren beim Transport zum Analyselabor zu gewährleisten.
Copan MSwab™ bewahrt die Nukleinsäuren von Krankheitserregern, die mit molekularen Amplifikationsverfahren (NAAT) identifiziert werden.

Das Probenahme-, Aufbewahrungs- und Transportsystem Copan MSwab™ wird in drei verschiedenen Formaten bereitgestellt:
a) Format Probenahme-Set. Jeder Probenahme-Set besteht aus einem Paket, das ein Reagenzglas mit Schraubverschluss und konischem Boden, das 1 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab™ sowie einen sterilen Peel-Beutel mit einem FLOQSwab™-Tupfer für die Probenahme enthält, dessen Spitze mit Nylonfasern bedeckt ist.
b) Format nur Reagenzglas. Ein Reagenzglas mit Schraubverschluss und konischem Boden, das 1 ml oder 2 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab™ enthält.
a) Format Probenahme-Set mit Reinigungstupfer.Jeder Probenahme-Set besteht aus einem Paket, das ein Reagenzglas mit Schraubverschluss und konischem Boden, das 2 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab™ sowie einen sterilen Peel-Beutel mit einem FLOQSwab™-Tupfer für die Probenahme enthält, dessen Spitze mit Nylonfasern bedeckt ist und einen Peel-Beutel mit einem Reinigungstupfer mit großer Faserspitze zum Entfernen des überschüssigen Vaginalschleims.

Nach der Probenahme mit dem Tupfer muss dieser sofort in das MSwab™-Reagenzglas für den Transport eingeführt werden. Die mit MSwab™ genommenen Proben, die mit Bakterien- oder Virenkultur analysiert werden sollen, müssen die Proben, um eine optimale Vitalität zu gewährleisten, nach Möglichkeit innerhalb von 2 Stunden nach der Probenahme (1, 2, 7) direkt zum Labor gebracht werden. Verzögert sich der Transport oder die anschließende Analyse, müssen die Proben bei 4 - 8 °C gekühlt oder bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) aufbewahrt und innerhalb von 48 Stunden analysiert werden. Untersuchungen zur Vitalität der Bakterien von Staphylococcus aureus ATCC 29213 und ATCC 6538 und Staphylococcus aureus (Methicillin-resistent) ATCC 43300 und ATCC 700698 zeigen, dass die Überlebensfähigkeit der getesteten Mikroorganismen bei Kühlung (4 - 8 °C) bis zu 14 Tage und bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) bis zu 72 Stunden beträgt. Unabhängige wissenschaftliche Studien über Tupfertransportsysteme zeigen, dass einige Bakterien eine größere Vitalität in gekühltem Zustand gegenüber Aufbewahrung bei Raumtemperatur zeigen (12 - 21). Wenn die Virusproben eingefroren werden sollen, müssen diese auf -70 °C abgekühlt werden.
Die mit MSwab™ genommenen Proben zum Nachweis von bakteriologischen oder viralen Nukleinsäuren müssen innerhalb von 14 Tagen analysiert werden, wenn sie bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) gelagert werden, innerhalb von 21 Tagen bei Lagerung bei 4 °C und innerhalb von 6 Monaten, wenn bei -20 °C gelagert.

REAGENZIEN

Formulierung des Transportmediums MSwab™
TRIS HCl
EDTA
TRIS Base
Dimethylsulfoxid (DMSO)
Rinderserumalbumin
Destilliertes Wasser

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Dieses Produkt ist ausschließlich für die in-vitro-Diagnostik bestimmt.
2. Es sind die entsprechenden Vorkehrungen in Bezug auf biologische Risiken und bewährte aseptische Techniken einzusetzen. Das Produkt darf nur von geschultem und qualifiziertem Personal verwendet werden.
3. Alle Proben und die zur Verarbeitung verwendeten Materialien müssen als potentiell infektiös betrachtet werden und müssen so behandelt werden, dass die Infektion des Laborpersonals verhindert wird. Nach der Verwendung müssen alle potenziell infektiösen Abfälle einschließlich der Proben, Behälter und Medien sterilisiert werden. Die anderen Empfehlungen des CDC für die Biosicherheitsstufe 2 (31, 32, 33, 34) müssen beachtet werden.
4. Die Anweisungen müssen sorgfältig gelesen und befolgt werden.

AUFBEWAHRUNG

Das Produkt ist einsatzbereit und erfordert keine weitere Vorbereitung. Es muss bis zur Verwendung im Originalbehälter bei 5 - 25 °C aufbewahrt werden. Nicht überhitzen. Vor der Verwendung nicht inkubieren oder einfrieren. Eine unsachgemäße Konservierung kann zu einem Verlust der Wirksamkeit führen. Das Produkt darf nicht nach dem Verfalldatum verwendet werden, welches deutlich auf der Umverpackung sowie auf jeder Probenahmeeinheit und auf dem Etikett des Transporttröhrchens der Probe aufgedruckt ist.

VERSCHLECHTERUNG DES PRODUKTS

Das Copan MSwab™ darf nicht verwendet werden, wenn (1) Hinweise auf Beschädigung oder Kontamination des Produktes vorliegen, (2) Anzeichen einer Undichtheit vorliegen, (3) das Verfalldatum überschritten wurde, (4) die Tupferverpackung offen ist, (5) andere Anzeichen einer Verschlechterung vorliegen.

ENTNAHME, AUFBEWAHRUNG UND TRANSPORT DER PROBEN

Die für mikrobiologische Analyse entnommene Proben, die eine Isolierung der Bakterien oder Viren vorsehen, müssen entsprechend der veröffentlichten Richtlinien und Handbücher entnommen und behandelt werden (7, 8, 4).

Um eine optimale Vitalität der Mikroorganismen und den einwandfreien Zustand der Nukleinsäuren zu gewährleisten, müssen die mit MSwab™ entnommenen Proben nach Möglichkeit innerhalb von 2 Stunden nach der Probenahme (1, 2, 7) direkt zum Labor gebracht werden. Verzögert sich der Transport oder die anschließende Analyse, müssen die Proben bei 4 - 8 °C gekühlt oder bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) aufbewahrt und innerhalb von 48 Stunden analysiert werden. Untersuchungen zur Vitalität der Bakterien von Staphylococcus aureus ATCC 29213 und ATCC 6538 und Staphylococcus aureus (Methicillin-resistent) ATCC 43300 und ATCC 700698 zeigen, dass die Überlebensfähigkeit der getesteten Mikroorganismen bei Kühlung (4 - 8 °C) bis zu 14 Tage und bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) bis zu 72 Stunden beträgt. Wenn die Virusproben eingefroren werden sollen, müssen diese auf -70 °C abgekühlt werden.
Die mit MSwab™ genommenen Proben zur Analyse mit NAAT müssen innerhalb von 14 Tagen analysiert werden, wenn sie bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) gelagert werden, innerhalb von 21 Tagen bei Lagerung bei 4 °C und innerhalb von 6 Monaten, wenn bei -20 °C gelagert.

Die besonderen Anforderungen an Transport und Handhabung der Proben müssen regionale und nationale Vorschriften (34, 35, 36, 37) in vollem Umfang erfüllen. Der Versand der Proben innerhalb medizinischer Einrichtungen muss im Einklang mit den internen Richtlinien der Einrichtung erfolgen. Alle Proben müssen sofort nach dem Eintreffen im Labor analysiert werden.

GELIEFERTE MATERIALIEN
In der Verkaufsverpackung sind fünfzig (50) MSwab™ Probenahmeeinheiten enthalten und die Umverpackung enthält 6 x 50 Einheiten.

Das Probenahme-, Aufbewahrungs- und Transportsystem Copan MSwab™ wird in drei verschiedenen Formaten bereitgestellt:
a) Format Probenahme-Set. Jeder Probenahme-Set besteht aus einem Paket, das ein Reagenzglas mit Schraubverschluss und konischem Boden, das 1 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab™ sowie einen sterilen Peel-Beutel mit einem FLOQSwab™-Tupfer für die Probenahme enthält, dessen Spitze mit Nylonfasern beflockt ist.
b) Format nur Reagenzglas. Ein Kunststoff-Reagenzglas mit Schraubverschluss und konischem Boden, das 1 ml oder 2 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab™ enthält.
c) Format Probenahme-Set mit Reinigungstupfer.Jeder Probenahme-Set besteht aus einem Paket, das ein Reagenzglas mit Schraubverschluss und konischem Boden, das 2 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab™ sowie einen sterilen Peel-Beutel mit einem FLOQSwab™-Tupfer für die Probenahme enthält, dessen Spitze mit Nylonfasern bedeckt ist und einen Peel-Beutel mit einem Reinigungstupfer mit großer Faserspitze zum Entfernen des überschüssigen Vaginalschleims.

Es stehen zwei Tupferarten für die Probenahme zur Verfügung: ein Tupfer in Standardgröße mit beflockten Nylonspitze für die Probenahme im Rachen, Vagina, Wunden, Rektum und Stuhl; ein pernasaler Tupfer mit beflockten Nylonspitze für die Probenahme im Nasenrachenraum. Alle mit MSwab™ gelieferten beflockten Tupfer besitzen eine farbig markierte Sollbruchstelle am Schaft. Nach der Probenahme am Patienten erleichtert die Sollbruchstelle das Abbrechen des Applikators in dem Reagenzglas mit dem MSwab™-Transportmedium.
Die besondere trichterförmige Ausbildung auf der Innenseite der Reagenzglaskappen erlaubt außerdem das Sichern des Tupferstabs nach dem Abbrechen. Beim Aufschrauben der Kappe auf das Reagenzglas wird das Stabende in die Aussparung der Kappe geschoben. Beim Öffnen des Reagenzglases im Labor bleibt der Applikator mit der Kappe verbunden und der Anwender kann den Tupfer bequem aus dem Reagenzglas entfernen und die Kappe als Griff zur Ausführung der mikrobiologischen Analysen verwenden.
Die Kappe mit der Verankerung des Stabs ist bei den pernasalen Tupfern (6E013N) nicht vorgesehen, da sie sehr flexibel sind und daher nicht fest in die Nasenhöhle eingeführt werden können.

ERFORDERLICHE, NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN
Geeignete Materialien für die Isolierung und Kultivierung von aeroben Bakterien und fakultativen Anaerobier.
Zu solchen Materialien gehören Kulturschalen oder -röhrchen und Inkubationssysteme. Für die empfohlenen Protokolle der Kultivierungstechniken und Identifizierung aerober Bakterien und fakultativen Anaerobier aus Tupfern für klinische Proben werden die Benutzer auf die Laborhandbücher verwiesen (2, 4).
Geeignete Materialien für die Isolierung, Differenzierung und Kultivierung von Viren. Zu diesen Materialien gehören Zelllinien für die Gewebekultur, Nährböden für Gewebe, Inkubationssysteme und Lesewerkzeuge. Für die empfohlenen Protokolle zur Isolierung und Identifizierung von Viren wird auf die entsprechenden Referenzen (1, 7) verwiesen.
Materialien, die für die Extraktion und Amplifikation von Nukleinsäuren durch molekularbiologische Untersuchungen geeignet sind. Heizblock und Zentrifuge für Verfahren zur schnellen Extraktion. Für die Identifizierung und Amplifikation von Nukleinsäuren in klinischen Proben des Puffers wird auf die entsprechenden Laborhandbücher verwiesen.

Bei Schnellextraktionsverfahren wird empfohlen die entsprechende Menge vom MSwab™ (siehe Abschnitt Behandlung der MSwab™-Proben für die molekulare Analyse im Labor, Methode B) in Copan Reagenzgläsern mit Glasperlen (separat erhältlich, Code 2E013S050) zu übertragen.

GEBRAUCHSANWEISUNG
Das Probenahme-, Aufbewahrungs- und Transportsystem Copan MSwab™ steht in den Produktkonfigurationen gemäß folgender Tabelle zur Verfügung.

Tabelle 1

Katalog-Nr.	Produktbeschreibung Copan MSwab™	Verpackungsinhalt
6E012N	Einweg-Verpackung für die Probenahme mit: – Reagenzglas 12 x 80 mm mit Schraubverschluss, mit 1 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab™. – Ein Tupfer FLOQSwab in Standardgröße mit geflockter Nylonspitze, steril und einzeln verpackt.	50 Stück/Packung 6x50 Stück/Karton
6E013N	Einweg-Probennahmepackung mit: – Reagenzglas 12 x 80 mm mit Schraubverschluss, mit 1 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab™. – Ein pernasaler Tupfer FLOQSwab mit geflockter Nylonspitze, steril und einzeln verpackt.	50 Stück/Packung 6x50 Stück/Karton
6E011N	Einzelnes Transport- und Aufbewahrungsröhrchen: – 1 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab™ in Reagenzglas 12 x 80 mm mit konischem Boden und Schraubverschluss.	50 Stück/Packung 6x50 Stück/Karton
6U019N	Einzelnes Transport- und Aufbewahrungsröhrchen: – 2 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab™ in Reagenzglas 12 x 80 mm mit konischem Boden und Schraubverschluss.	50 Stück/Packung 6x50 Stück/Karton

6E028N.MER	Einweg-Verpackung für die Probenahme mit: – Reagenzglas 12 x 80 mm mit Schraubverschluss, mit 2 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab™. – Ein Tupfer FLOQSwab in Standardgröße mit geflockter Nylonspitze, steril und einzeln verpackt. – Ein Fasertupfer mit großer Spitze, steril und einzeln verpackt.	50 Stück/Packung 6x50 Stück/Karton

Es stehen andere Produktreferenzen zur Verfügung. Besuchen Sie für Aktualisierungen unsere Website: www.copanflock.com

Probennahme

Die richtige Probennahme am Patienten ist besonders wichtig, damit eine erfolgreiche Isolierung und Identifizierung der infizierter Organismen erfolgen kann. Für detaillierte Anweisungen zur Probennahme wird auf die entsprechenden veröffentlichten Referenzhandbücher (7, 2) verwiesen.

Das Transportmedium MSwab™ nicht zum Befeuchten des Tupfers vor der Probenahme oder zum Spülen oder Nässen der Probenahmestelle verwenden.

Für die MSwab™-Codes 6E012N und 6E013N:

1. Die Verpackung des Kits öffnen und das Reagenzglas mit Transportmedium sowie den enthaltenen Beutel mit sterilen Tupfer entnehmen (siehe Abbildung 1).
2. Den Entnahmetupfer aus dem Peel-Beutel entnehmen und zur Probenahme der klinischen Probe verwenden. Der Benutzer darf den Applikator nur oberhalb der farbigen Sollbruchstelle berühren, wie in Abb. 1 gezeigt, die sich am gegenüberliegenden Ende der beflockten Nylonspitze befindet. Der Benutzer darf während der Handhabung des Tupfers nie den Bereich unterhalb der Sollbruchstelle (der Bereich von der Linie bis zur nylonbeflockten Spitze des Tupfers) berühren, da dies zu einer Kontaminierung des Applikatorstäbchens und folglich der Kultur führen könnte.
3. Die Probe am Patienten nehmen.
4. Die Kappe vom MSwab™-Reagenzglas abschrauben, dabei beachten, dass kein Transportmedium verschüttet wird.
5. Den Tupfer in das Reagenzglas einführen, bis sich die rot markierte Sollbruchstelle auf Höhe der Reagenzglasöffnung befindet.
6. Den Tupfer an der rot markierten Sollbruchstelle wie in Abbildung 1 dargestellt biegen und brechen, dabei das Reagenzglas fern vom Gesicht halten.
7. Den abgebrochenen Griff des Tupferschafts in einem für die Entsorgung von medizinischen Abfällen zugelassenen Behälter entsorgen.
8. Die Kappe wieder auf das Reagenzglas aufsetzen und fest verschließen.
9. Die Patientendaten auf das Etikett des Reagenzglases schreiben oder das Patientenetikett aufkleben. Die Probe an das Analyselabor schicken.

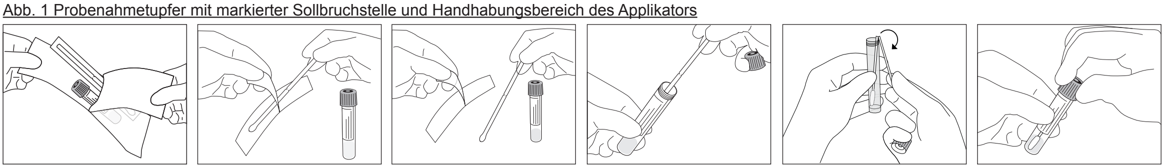
Für den Code MSwab™ 6E028N.MER:

1. Die Verpackung des Kits öffnen und das Reagenzglas mit Transportmedium sowie den enthaltenen Beutel mit sterilen Tupfer und einen mit dem Reini gungstupfer „Cleaning Swab“ mit großer Spitze entnehmen.
2. Die Verwendung des Reinigungstupfer „Cleaning Swab“ ist empfohlen nur wenn die Anweisung für die Entnahme von Endozervikalproben wird verfolgt. Der Reinigungstupfer „Cleaning Swab“ (groβe Tupfer mit Faserspitze – siehe Abbildung 1) wird verwendet nur um den überschlüssigen Schleim von der Öffnung des Gebärmutterhalses und der umgebenden Schleimhaut zu entfernen. **Den Tupfer entsorgen nach dem Gebrauch.**
   Falls eine Anweisung für die Entnahme von Proben, die nicht Endozervikalproben sind, verfolgt wird, darf der Reinigungstupfer „Cleaning Swab“ mit groβer Spitze nicht verwendet werden und er darf entsorgen werden.
3. Für die Entnahme der klinischen Probe die Anweisungen für die Codes 6E012N und 6E013N ab Schritt 2 befolgen.

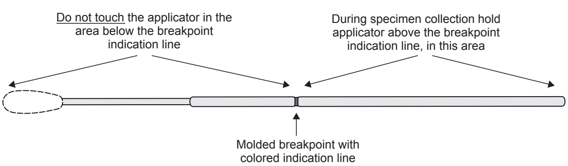
Für die MSwab™-Codes 6E012N und 6U019N:

1. Nach der Probenahme am Patienten mit dem Tupfer, die Kappe vom MSwab™-Reagenzglas abschrauben, dabei beachten, dass kein Transportmedium verschüttet wird.
2. Den Tupfer in das Reagenzglas einführen.
3. Wenn der Puffer eine Bruchstelle, biegen und brechen Sie den Tupfer an der Bruchstelle, dabei das Reagenzglas fern vom Gesicht halten.
4. Die Kappe wieder auf das Reagenzglas aufsetzen und fest verschließen.
5. Die Patientendaten auf das Etikett des Reagenzglases schreiben oder das Patientenetikett aufkleben. Die Probe an das Analyselabor schicken.

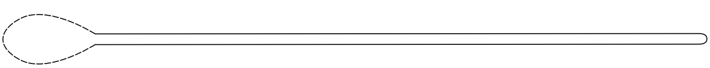
Abb. 1 Probenahmetupfer mit markierter Sollbruchstelle und Handhabungsbereich des Applikators



COLLECTION SWAB



CLEANING SWAB



Der Benutzer darf das Applikatorstäbchen des Tupfers nur oberhalb der Markierungslinie der Sollbruchstelle berühren, wie in Abb. 1 dargestellt. Nach der Probenahme am Patienten mit dem Tupfer das Applikatorstäbchen auf Höhe der farbigen Sollbruchstelle im MSwab™-Reagenzglas mit MSwab™-Transportmedium brechen. Der Benutzer muss dann den so abgetrennten Tupferteil in einem zugelassenen Behälter für medizinische Abfälle entsorgen. Der Schraubverschluss des Reagenzglases muss wieder aufgesetzt und fest verschlossen werden. Die Schraubbewegung der Kappe auf dem Reagenzglas drückt das Ende des Applikatorstäbchens in einer trichterförmige Aufnahme in der Kappe (siehe Abb. 2). Dieser trichterförmige Hohlraum nimmt das abgebrochene Ende des Applikatorstäbchens auf und klemmt es fest.

Abb. 2 Festklemmen des abgebrochenen Tupferstäbchens in der Kappe des MSwab™-Reagenzglases



Die Funktion Greiferkappe wird nur bei Verwendung des geflockten Copan Tupfers in Standardgröße garantiert.

Beim Abschrauben der MSwab™-Kappe im Analyselabor ist das Applikatorstäbchen des Tupfers sicher mit der Kappe verbunden. Mit dieser Funktion kann der Benutzer den Tupfer auf einfache Weise entfernen und verschiedene mikrobiologische Analysen mit Hilfe der Reagenzglaskappe als Griff ausführen, um den Tupfer zu handhaben.

HINWEIS ZUR KLEMMFUNKTION DER KAPPE:
Die Kappe ist so geformt, dass die Klemmung ermöglicht wird, wenn innerhalb des Reagenzglases ein Copan Tupfer mit normaler Größe verwendet und abgebrochen wird. Bei Verwendung eines pernasalen Tupfers wird die Klemmfunktion nicht garantiert.
Der pernasale Tupfer (6E013N) muss unmittelbar vor der Probenanalyse vorsichtig aus dem Reagenzglas entfernt werden. Diese Vorsichtsmaßnahme verhindert ein versehentliches Herabfallen der Probe von der Kappe.

Verarbeitung der MSwab™-Proben im Labor – Bakteriologie

Die MSwab™-Proben müssen für bakteriologische Kulturen mit Einsatz der empfohlenen Nährböden und Labortechniken verarbeitet werden, welche von der Probenart und den untersuchten Organismen abhängen. Für die Nährböden und Kulturtechniken zur Isolierung und Identifizierung von Bakterien aus klinischen Proben wird auf die veröffentlichten Mikrobiologiehandbücher und -leitlinien (1-6) verwiesen.
Die Analysen bei Probenkulturen von Tupfern zum Nachweis von Bakterien sieht normalerweise die Verwendung von festem Agar als Nährboden in Petrischalen vor. Das Verfahren zum Animpfen der MSwab™-Proben auf festem Agar in Petrischalen ist wie folgt.

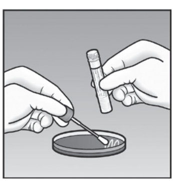
Hinweis: Bei der Handhabung von klinischen Proben Latexhandschuhe und alle anderen erforderlichen Schutzausrüstungen tragen. Die anderen Empfehlungen des CDC für die Biosicherheitsstufe 2 (31, 32, 33, 34) müssen beachtet werden.

Das MSwab™-Reagenzglas mit der Tupferprobe für 5 Sekunden vortexen, um die Probe aus der Tupferspitze zu lösen und diese gleichmäßig im Nährboden der Patientenprobe zu verteilen und aufzulösen.

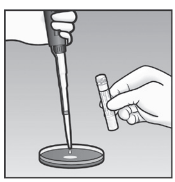
1. Die MSwab™-Kappe abschrauben und den Tupferapplikator entfernen.
2. Die MSwab™-Applikatorspitze auf der Oberfläche eines Quadranten der Schale mit dem Nährboden hin und her rollen, um das primäre Inokulum auszuführen.
3. Wenn die Probe des Tupfers in einer zweiten Petrischale kultiviert werden soll, den MSwab™-Applikator für zwei Sekunden in das Reagenzglas mit dem Transportmedium stecken, um die Applikatorspitze mit der Suspension des Nährbodens/Patientenprobe anzureichern und den Schritt Nr. 3 wie derholen.
4. Wenn weitere Petrischalen angeimpft werden sollen, den MSwab™-Applikator vor dem Animpfen jeder zusätzlichen Schale in das Reagenzglas mit dem Transportmedium stecken, um die Applikatorspitze mit der Lösung des Nährbodens/Patientenprobe anzureichern.

Das oben beschriebene Verfahren verwendet den MSwab™-Applikator als Impföse, um die Suspension der Patientenprobe im Transportmedium auf der Oberfläche der Petrischale zu übertragen, wodurch das primäre Inokulum ausgeführt wird (siehe Abb. 3).
Alternativ kann der Benutzer das MSwab™-Reagenzglas mit dem Tupfer für 5 Sekunden vortexen und dann 100 µl Suspension mit einer Dosierpipette mit steriler Spitze auf die einzelnen Petrischalen übertragen. Das Standardlaborverfahren anwenden, um den Ausstrich des primären Inokulums der Patientenprobe auf der Plattenoberfläche auszuführen (siehe Abb. 4).

Abb. 3 Verfahren zum Animpfen der MSwab™-Proben auf festem Agar in Petrischalen

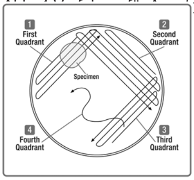


1. Verwendung des Tupfers zum Animpfen der Probe



2. Verwendung der Pipette und steriler Spitze zum animpfen von 100µl der Probe.
Dieses Animpfverfahren sollte verwendet werden, wenn die klinische Probe auch mit NAAT-Techniken analysiert wird.

Abb. 4 Verfahren für Ausstrich der MSwab™-Proben in Petrischalen für die primäre Isolierung (33)



Durchführen eines primären Inokulums der MSwab™-Probe in einer Petrischale mit Agar im ersten Quadranten.

Eine sterile Öse für Bakteriologie verwenden, um das primäre Inokulum auf der Oberfläche des zweiten, dritten und vierten Quadranten der Petrischale mit Agar auszustreichen.

Vorbereitung der Ausstriche mit Gram-Färbung der MSwab™-Proben

Die Laboranalyse der Proben von klinischen Tupfern, die von bestimmten Körperteilen der Patienten genommen wurden, können routinemäßig die mikroskopische Untersuchung von gefärbten Präparaten („direkte Ausstriche") unter Verwendung des Gram-Färbungsverfahrens enthalten. Dies kann wertvolle Informationen für Ärzte enthalten, die Patienten mit Infektionskrankheiten (22) behandeln. Es gibt viele Fälle, in denen ein Gram-Färbung hilfreich für die Diagnose (23, 27) sein kann. Die Gram-Färbung kann auch zur Qualitätsbeurteilung der Proben beitragen und bei der Auswahl der Nährböden helfen, insbesondere bei Mischflora.
Die Objektträger von Patientenproben, die mit dem Copan MSwab™ Transportsystem transportiert werden, können wie später beschrieben für die Analyse der Gram-Färbung vorbereitet werden, indem ein Teil der vortexierten Probensuspension probiert wird (3, 4). Die mit dem MSwab™-Elutionsboden transportierten Proben stellen eine homogene Suspension in flüssiger Phase dar. Sie können gleichmäßig ausgestrichen werden, was ein klares und einfaches Lesen ermöglicht.

Hinweis: Bei der Handhabung von klinischen Proben Latexhandschuhe und alle anderen erforderlichen Schutzausrüstungen tragen. Die anderen Empfehlungen des CDC für die Biosicherheitsstufe 2 (31, 32, 33, 34) müssen beachtet werden.

1. Einen sauberen Objektträger nehmen, auf eine ebene Fläche legen und mit einer Diamantspitze oder einem ähnlichen Werkzeug einen Bereich umschreiben, um die Animpfposition der Probe zu kennzeichnen. Hinweis: Es kann auch ein Objektträger mit vormarkierter 20 mm Vertiefung verwendet werden.

2. Das MSwab™-Reagenzglas mit der Tupferprobe für 5 Sekunden vortexen, um die Probe aus der Tupferspitze zu lösen und diese gleichmäßig im Nährboden der Patientenprobe zu verteilen und aufzulösen.

3. Die MSwab™-Kappe abschrauben und mit einer sterilen Pipette 1 - 2 Tropfen der Probensuspension auf den umschriebenen Bereich des Objektträgers aufbringen. Hinweis: Etwa 30 µl stellen eine geeignete Flüssigkeitsmenge für eine vormarkierte 20 mm Vertiefung dar.
Bei besonders dichten oder bluthaltigen Proben muss besonders darauf geachtet werden, die Probe dünn auf dem Objektträger zu verteilen. Die Bakterien sind schwer zu erkennen, wenn die Probe viele rote Blutkörperchen und Schmutz aufweist.

4. Warten, bis die Probe auf dem Objektträger bei Raumtemperatur an der Luft trocknet, oder den Objektträger in einem elektrischen Heizgerät oder einem Inkubator für Objektträger mit einer Temperatur von max. 42 °C trocknen.

5. Die Ausstriche mit Methanol fixieren. Die Fixierung mit Methanol wird empfohlen, da sie der Lyse der roten Blutkörperchen vorbeugt und eine Beschädigung aller Wirtszellen verhindert, sowie als Ergebnis für einen saubereren Hintergrund sorgt (3, 4, 22).

6. Für die Gram-Färbung müssen die Referenzleitlinien und Handbücher des Labors beachtet werden. Werden handelsübliche Reagenzien für die Gram-Färbung verwendet, müssen die Herstelleranweisungen der Packungsbeilage für die Durchführung des Performancetests beachtet werden.

Für weitere Informationen oder Leitfäden zur Vorbereitung der Probenobjektträger für die mikroskopische Analyse, Informationen zu den Verfahren für die Gram-Färbung und für die Auswertung und Berichterstattung der mikroskopischen Analyse wird auf die veröffentlichten Labor-Referenzhandbücher (1 - 5, 22 - 27) verwiesen.

Verarbeitung der MSwab™-Proben im Labor - Virologie

Das Überleben von HSV 1 und HSV 2 hängt von vielen Faktoren ab, einschließlich der Art und Konzentration des Mikroorganismus, der Dauer des Transports und der Aufbewahrungstemperatur. Um eine optimale Vitalität zu gewährleisten, müssen die Proben nach Möglichkeit innerhalb von 2 Stunden nach der Probenahme (1, 2, 7, 29) direkt zum Labor gebracht werden. Verzögert sich der Transport oder die anschließende Analyse, müssen die mit dem MSwab™ Probenahme-, Aufbewahrungs- und Transportsystem genommenen Proben bei 4 - 8 °C gekühlt oder bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) aufbewahrt und innerhalb von 48 Stunden verarbeitet werden. Wenn die Proben eingefroren werden sollen, müssen diese auf -70 °C abgekühlt werden.

Bei Simulationsstudien für Transport und Aufbewahrung hat das Copan MSwab™-System nachweislich gezeigt, dass es die Vitalität von HSV 1 und HSV 2 unter gekühlten Bedingungen (4 - 8 °C) und bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) für bis zu 48 Stunden gewährleisten kann. Auf Grundlage von Vitalitätsstudien von Copan und unabhängigen wissenschaftlichen Veröffentlichungen ist die Überlebensfähigkeit einiger Mikroorganismen bei gekühlter Temperatur höher im Vergleich zu Raumtemperatur (12 - 21, 29).

Die MSwab™-Proben müssen für virale Kulturen mit Einsatz der empfohlenen Zelllinien und Labortechniken verarbeitet werden, welche von der Probenart und den untersuchten Organismen abhängen. Für die Flachbodengläser und empfohlenen Techniken zur Isolierung und Identifizierung von HSV 1 und HSV 2 aus klinischen Proben wird auf die veröffentlichten Virologiehandbücher und -leitlinien (1 - 6, 29, 30) verwiesen.

Die Analyse der Kulturen von Tupferproben auf die Anwesenheit von HSV 1 und HSV 2 erfordert normalerweise den Einsatz von Zellkulturen in Flachbodengläsern. Das Verfahren zum Animpfen der MSwab™-Proben in Flachbodengläsern wird nachfolgend beschrieben.

1. Hinweis: Bei der Handhabung von klinischen Proben Latexhandschuhe und alle anderen erforderlichen Schutzausrüstungen tragen. Die anderen Empfehlungen des BSL 2 beachten.
2. Das MSwab™-Reagenzglas mit der Tupferprobe für 5 Sekunden vortexen, um die Probe aus der Tupferspitze zu lösen und diese gleichmäßig im

Nährboden der Patientenprobe zu verteilen und aufzulösen.

3. Die MSwab™-Kappe abschrauben und den Tupferapplikator entfernen.
4. Ein Volumen von 200 µl der Suspension in das Flachbodenglas gemäß des internen Laborverfahrens übertragen.

HINWEIS: Die Patientenproben mit einer hohen Belastung durch bakterielle Verunreinigungen können die Zugabe von Antibiotika zum Erhaltungsmedium und Zellkultur erfordern.

5. Mit den entsprechenden Techniken zur Virenerkennung fortfahren.

Verarbeitung der MSwab™-Proben für molekulare Analysen im Labor

Für Proben zum Nachweis von Nukleinsäuren wird die Analyse sofort nach dem Eintreffen im Labor empfohlen. Bei einer Verzögerung wird auf die jeweiligen Lagerbedingungen verwiesen.

HINWEIS: Für den Umgang mit klinischen Proben müssen Latex-Handschuhe und andere allgemeine Schutzausrüstungen verwendet werden. Die Biosicherheitsstufe (BSL) 2 des CDC beachten (31, 32, 33, 34).
Die Verwendung molekularer Methoden sieht den Einsatz notwendiger Vorkehrungen vor, um eine Ausbreitung der Kontaminierung zu vermeiden. Die Abtrennung der Arbeitsräume und ein unidirektionaler Arbeitsfluss sind unerlässlich, um die Kontamination des Amplicon (35) zu verhindern.

Die Formulierung der MSwab™-Mediums wurde hinsichtlich einer Kompatibilität mit PCR Master Mix entwickelt; hierdurch eignet sich MSwab™ zur direkten Anwendung der Nukleinsäureamplifikation, ohne die Notwendigkeit einer Standardextraktion und Reinigung.
Zwei verschiedene Verfahren (A und B) können für die Verarbeitung von MSwab™-Proben angewendet werden:

A) Standard-Extraktionsmethode

1. Das MSwab™-Reagenzglas für 10 Sekunden vortexen, die Kappe abschrauben, zwischen Daumen und Zeigefinger halten und drehen, damit die meiste Flüssigkeit von der Spitze austritt.

HINWEIS: Die Kappe mit der Verankerung des Stabs ist bei den pernasalen Tupfern (6E013N) nicht vorgesehen, da sie sehr flexibel sind und daher nicht fest in die Nasenhöhle eingeführt werden können. In diesem Fall nach dem Austreten der Flüssigkeit aus der Spitze, den Applikator mit einer Pinzette aus dem Reagenzglas entfernen.

2. Den Tupfer entsorgen und eine geeignete Probenmenge (z. B. 200 ul) in ein Extraktionsreagenzglas gemäß der Standard-Laborverfahren übertragen.
3. Mit dem Extraktionsverfahren und der Amplifizierung gemäß der verwendeten Kits fortfahren

Das MSwab™-System wurde mit den folgenden Extraktionsmethoden validiert: Membran-Kieselgel (Qiagen, Macherey & Nagel), magnetische Perlen (easyMAG, QIAsymphony, Magnapure). Andere Extraktionsmethoden sind nach Validierung anwendbar.

B) Schnellextraktionsmethode

Für den Nachweis einer viralen Kontamination wird ein Schritt mit thermischen Schock empfohlen, um die Proben zu lysieren.

1. Das MSwab™-Originalreagenzglas für 10 Sekunden vortexen.

HINWEIS: Die Kappe mit der Verankerung des Stabs ist bei den pernasalen Tupfern (6E013N) nicht vorgesehen, da sie sehr flexibel sind und daher nicht fest in die Nasenhöhle eingeführt werden können.

2. Mit einer Mikropipette 200 ul der MSwab™-Probe in ein Mikroreagenzglas mit sterilen Glasperlen (2E013S50: Copan Reagenzglas mit Glasperlen, sepa rat erhältlich) übertragen und für 10 Sekunden vortexen. Die originale MSwab™-Probe für zusätzliche Kulturen oder Tests aufbewahren.
3. Das Mikroreagenzglas in einem Thermostat mit 98 - 100 °C wie folgt erhitzen:
   – 3 Minuten für Viren
   – 10 Minuten für grampositive Bakterien
   – 5 Minuten für gramnegative Bakterien
4. Das Reagenzglas bei Raumtemperatur für 5 Minuten abkühlen
5. Das Mikroreagenzglas mit 10000xg für 2 Minuten zentrifugieren, um die Zelltrümmer zu sedimentieren.
6. Einen Teil der im Mastermix behandelten MSwab™-Probe übertragen und mit dem Amplifikationsschritt entsprechend des Verfahrens des Amplifikationskit fortfahren.

Das oben beschriebene Schnellextraktionsverfahren wurde mit R-Biopharm RIDA®GENE Real Time PCR-Kits, Seegene Anyplex FluA/B Typing Real Time detection kit und mit Genesig Real Time PCR kits by Primer Design im Vergleich zu Schnellextraktionsverfahren getestet. Andere PCR Amplifikationsmethoden sind nach Validierung anwendbar. Zu den getesteten Stämmen gehören: B. pertussis (ATCC 8467), S. aureus (Methicillin-resistent) (ATCC 43300), E. coli O157-H7 (ATCC 700 728), S. typhimurium (ATCC 14028), C. difficile (ATCC 9689), Influenza-A-Virus (ATCC VR-822), Influenza-B-Virus (ATCC VR-786) und Neisseria gonorrhoeae (ATCC 43069) und Chlamydia trachomatis (ATCC VR880). Die Tests wurden nicht unter Verwendung Matrizen menschlichen Ursprungs durchgeführt.

Die erhaltenen Ergebnisse hängen stark von der Eignung der Probenahme-, Transport- und Analysetätigkeiten im Labor ab.

QUALITÄTSKONTROLLE

Die MSwab™-Applikatoren wurden auf Ungiftigkeit gegenüber den Bakterien getestet. Das Transportmedium und MSwab™-Applikatoren wurden getestet, um zu gewährleisten, dass sie ungiftig für die Zelllinien sind, die für die Kultur von HSV 1 und HSV 2 sind. Das Transportmedium MSwab™ wurde hinsichtlich der Stabilität des pH-Werts und des Fehlens von Inhibitoren durch direkte Amplifikationstechniken (9) getestet. Das MSwab™ wurde vor der Vermarktung Qualitätskontrollen hinsichtlich dessen Fähigkeit, die Vitalität grampositiver aerober Bakterien und fakultativer Anaerobier und HSV-Viren bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) für bestimmte Zeiträume zu gewährleisten, unterzogen. Die Verfahren für die Qualitätskontrolle der mikrobiologischen Transporteinrichtungen müssen nach den Testmethoden ausgeführt werden, die vom Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A und anderen Veröffentlichungen (9) beschrieben werden. Falls stark abweichende Kontrollergebnisse festgestellt werden, dürfen die Patientenergebnisse nicht berichtet werden.

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Im Labor müssen während der Handhabung der klinischen Proben Latexhandschuhe und alle anderen erforderlichen Schutzausrüstungen tragen. Während der Handhabung oder Analyse der Kundenproben muss die Biosicherheitsstufe 2 des CDC beachten werden (31, 32, 33, 34).
2. Die Bedingungen, das Timing und das Volumen der für die Kultur entnommenen Proben sind signifikante Variablen für verlässliche Ergebnisse der Kultur. Die empfohlenen Richtlinien für die Probenahme beachten (7, 8, 4).
3. MSwab™ ist für die Verwendung als Probenahme- und Transportsystem mit grampositiven aeroben Bakterien und fakultativen anaerobier, sowie HSV 1 und HSV 2 Viren und dem Nachweis von Nukleinsäuren von Bakterien und Viren vorgesehen.
   MSwab™ kann nicht als Anreicherungs-, Auswahl- oder Differentialmedium verwendet werden.
4. Das Kulturmedium MSwab™ enthält keine Antibiotika. Die Patientenproben mit einer hohen Belastung durch bakterielle Verunreinigungen können die

Zugabe von Antibiotika zum Erhaltungsmedium und Zellkultur erfordern.
5. Die Leistungstests von Copan MSwab™ ™ wurden mit Laborstämmen ausgeführt, die auf einen Tupfer entsprechend der Testprotokolle aufgetragen wurden, die im Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A Approved Standard beschrieben sind (9). Die Performancetests wurden nicht mit menschlichen Proben durchgeführt.
6. Die Performancetests des Copan MSwab™ wurden mit beflockten Tupfern von Copan ausgeführt.

VORSICHTSHINWEISE

1. Zur Verwendung in-vitro-Diagnostik.
2. Die ungenutzten Tupfer vor dem Gebrauch nicht erneut sterilisieren.
3. Dieses Produkt ist ausschließlich für den einmaligen Gebrauch; eine Wiederverwendung kann zu einem Infektionsrisiko bzw. ungenauen Ergebnissen führen.
4. Nicht wiederverpacken.
5. Nur für den vorgesehenen Einsatzzweck verwenden.
6. Die Verwendung des Produktes mit einem Schnelldiagnosekit muss vom Benutzer im Vorfeld validiert werden.
7. Bei eindeutigen Beschädigungen nicht verwenden (z. B. Spitze oder Schaft des Tupfers gebrochen).
8. Während der Probenahme am Patienten keine übermäßige Kraft anwenden oder drücken, da hierdurch der Tupferschaft brechen könnte.
9. Das gleiche Reagenzglas nicht für mehrere Patienten verwenden. Dies führt zu Fehldiagnosen oder mangelhaften Diagnosen.
10. Vor dem Transport sicherstellen, dass die Schraubkappe des MSwab™ fest verschlossen ist.
11. Nicht benötigte Reagenzien, Abfälle und Proben gemäß den örtlichen Vorschriften entsorgen.
12. Kontakt des MSwab™-Mediums mit der Haut und Schleimhaut vermeiden. Bei Kontakt gründlich mit Wasser abspülen.
13. Das Transportmedium nicht verschlucken.
14. Die Gebrauchsanweisungen genau befolgen. Der Hersteller übernimmt keine Haftung für die Verwendung durch unqualifizierte oder unberechtigte Personen.
15. Das Produkt darf ausschließlich durch geschultes Personal gehandhabt werden.
16. Es muss immer davon ausgegangen werden, dass alle Proben infizierte Mikroorganismen enthalten, daher wird zu größter Vorsicht geraten. Nach Gebrauch die Reagenzgläser und Tupfer entsprechend der Laborpraxis für infektiöse Abfälle entsorgen. Die Biosicherheitsstufe 2 des CDC beachten (31, 32, 33, 34).
17. Das Transportmedium MSwab™ vor der Probenahme nicht zur Befeuchtung des Applikators oder zum Spülen oder Dosieren an Probenahmestellen verwenden.

ERGEBNISSE
Die erzielten Ergebnisse hängen weitgehend von der ordnungsgemäßen und geeigneten Probenahme, sowie dem zeitnahen Transport und Verarbeitung im Labor ab.

LEISTUNGSMERKMALE

Wiederfindung von Batterien
Die verwendeten Analyseverfahren zur Bestimmung der Performance hinsichtlich der Vitalität der Bakterien basieren auf den QS-Methoden, die im Text Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A (9) beschrieben sind.

Das System MSwab™ eignet sich ausschließlich für die Probennahme von grampositiven aeroben und fakultativ anaeroben Bakterien und HSV 1 und HSV 2 Viren, daher ist der praktische Einsatzbereich kleiner als der bestimmter anderer Vorrichtungen. Aus diesem Grund wurden die Wiederfindungsstudien der Bakterien unter Transport- und Aufbewahrungsbedingungen simuliert, wie sie in CLSI M40-A, Quality Control of Microbiological Transport Systems: Approved Standard beschrieben sind und es wurden areobe und fakoltativ anaerobe grampositive nach Gruppe 1 Bakterienstämme gemäß Paragraf 7.11.1 des Dokuments CLSI M40-A aufgenommen, insbesondere:

Streptococcus pyogenes	ATCC® 19615
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 6305
Pseudomonas aeruginosa	ATCC® BAA-427

Darüber hinaus hat Copan die Prüfung zusätzlicher grampositiver aerober Mikroorganismen und fakultativer Anaerobier mit klinischer Relevanz durchgeführt, die nicht von der CLSI M40-A gefordert werden.
Die spezifischen Bakterienstämme dieser Studien sind nachfolgend angegeben:

Enterococcus faecalis	ATCC® 29212
Staphylococcus epidermidis	ATCC® 12228
Staphylococcus aureus	ATCC® 29213
Streptococcus agalactiae (Gruppe B Strep)	ATCC® 13813
Kocuria rhizophila	ATCC® 9341
Listeria monocytogenes	ATCC® 19114
Bacillus cereus	ATCC® 10876
Staphylococcus aureus (Methicillin-resistent)	ATCC® 43300
Staphylococcus aureus	ATCC® 6538
Staphylococcus aureus (Methicillin-resistent)	ATCC® 700698
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 49136

Alle Bakterienkulturen waren Typ ATCC (American Type Culture Collection) und wurden über den Handel bezogen.

Die Auswahl dieser Organismen spiegelt auch jene grampositiven aeroben und fakultativ anaeroben Bakterien wider, die normalerweise auf den genommenen Proben angetroffen werden und in einem typischen klinischen mikrobiologischen Labor analysiert werden.

Die Untersuchungen zur Vitalität der Bakterien wurde mit Copan MSwab™ bei zwei verschiedenen Temperaturbereichen, 4 - 8 °C und 20 - 25 °C, ausgeführt, entsprechend der Kühltemperatur und der Raumtemperatur. Die Tupfer, die jedem Transportsystem beilagen, wurden dreifach mit 100µl spezifischer Konzentrationen für Organismensospensionen beimpft. Die Tupfer wurden dann in ihre entsprechenden Reagenzgläser mit Transportmedium platziert, und wurden dann für 0, 24 und 48 Stunden aufbewahrt. Nach den entsprechenden Zeitintervallen wurde jeder Tupfer nach der Elutionsmethode des Tupfers oder der Roll-Plate verarbeitet.

Weitere Untersuchungen zur Vitalität der Bakterien von Staphylococcus aureus ATCC 29213 und ATCC 6538 und Staphylococcus aureus (Methicillin-resistent) ATCC 43300 und ATCC 700698 wurden mit Copan MSwab™ bei zwei verschiedenen Temperaturbereichen, 4 - 8 °C und 20 - 25 °C, ausgeführt, entsprechend der Kühltemperatur und der Raumtemperatur.
Die Tupfer, die jedem Transportsystem beilagen, wurden dreifach mit 100 µl spezifischer Konzentrationen für Organismensospensionen beimpft.
Die Tupfer wurden dann in ihre entsprechenden Reagenzgläser mit Transportmedium platziert, und:
Für die bei 4 - 8 °C durchgeführten Studien wurde die inokulierten MSwab™-Reagenzgläser für 0 Stunden, 10 Tage und 14 Tage in diesem Zustand aufbewahrt. Nach den entsprechenden Zeitintervallen wurde jeder MSwab™ nach der Roll-Plate-Methode verarbeitet.

Für die bei 20 - 25 °C durchgeführten Studien wurde die inokulierten MSwab™-Reagenzgläser für 0 Stunden und 72 Stunden in diesem Zustand aufbewahrt. Nach den entsprechenden Zeitintervallen wurde jeder MSwab™ nach der Roll-Plate-Methode verarbeitet.

Die Untersuchungen zur Vitalität der Bakterien wurde mit Copan MSwab™ bei zwei verschiedenen Temperaturbereichen, 4 - 8 °C und 20 - 25 °C, ausgeführt, entsprechend der Kühltemperatur und der Raumtemperatur. Die Tupfer, die jedem Transportsystem beilagen, wurden dreifach mit 100µl spezifischer Konzentrationen für Organismensospensionen beimpft. Die Tupfer wurden dann in ihre entsprechenden Reagenzgläser mit Transportmedium platziert, und wurden dann für 0 und 48 Stunden aufbewahrt. Nach den entsprechenden Zeitintervallen wurde jeder Tupfer nach der Roll-Plate-Methode verarbeitet.
Die Untersuchungen auf übermäßiges Bakterienwachstum wurden mit der Verwendung von Pseudomonas aeruginosa ausgeführt.

Die Untersuchungen zur viralen Vitalität wurden mit HSV 1 und HSV 2 ausgeführt. Die Tupfer, die jedem Transportsystem beilagen, wurden dreifach mit 100µl spezifischer Konzentrationen für Organismensospensionen beimpft. Die Tupfer wurden dann in ihre entsprechenden Reagenzgläser mit Transportmedium platziert, und wurden dann für 0, 24 und 48 Stunden sowohl bei 4 °C als auch bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) aufbewahrt. Nach geeigneten Zeitintervallen wurde jeder Tupfer vortexiert, aus seinem Reagenzglas mit Transportmedium entnommen und eine Menge von 200 µl dieser Suspension in Flachbodengläsern inokuliert. Alle Kulturen wurden mit Laborstandardtechniken für Kulturen verarbeitet und nach einer bestimmten Inkubationszeit untersucht. Die Vitalität der Organismen wurde durch Zählen der Fluoreszenzherde bestimmt.

Folgende Organismen wurden bewertet:
Herpes Simplex Virus Typ 1 (HSV 1) ATCC VR-539
Herpes Simplex Virus Typ 2 (HSV 2) ATCC VR-734.

In Übereinstimmung mit dem Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A, wird die Vitalitätsleistung für jeden Testorganismus beim 48 Stundenpunkt gemessen und mit dem Akzeptanzkriterium verglichen.

Bei Performancestudien der Vitalität, sowohl bei Roll-Plate und bei Verdünnung des Tupfers war das Copan MSwab™ System in der Lage eine akzeptable Wiederfindung aller bewerteten Organismen, sowohl bei Kühlung (4 - 8 °C) als auch bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) zu gewährleisten. Die akzeptable Wiederfindung für die Roll-Plate-Methode wurde als ≥5 KBE nach der angegebenen Aufbewahrungszeit bei der angegebenen Verdünnung definiert, welche eine Zählung beim Zeitpunkt Null so nah wie möglich bei 300 KBE gibt. Die akzeptable Wiederfindung für das Elutionsverfahren des Tupfers wurde mit einer Abnahme von höchstens 3 log10 (1 x 10^3 +/- 10%) der KBE zwischen der Nullzeit der KBE-Zählung und der KBE des Tupfers nach der angegebenen Aufbewahrungszeit definiert.

Weitere Zeitpunkte wurden für Staphylococcus aureus, ATCC 29213 und ATCC 6538, Staphylococcus aureus (Methicillin-resistent) ATCC 43300 und ATCC 700698 getestet. Bei Performancestudien der Vitalität bei Roll-Plate war das Copan MSwab™ System in der Lage eine akzeptable Wiederfindung aller bewerteten Organismen, sowohl bei Kühlung (4 - 8 °C) für 14 Tage als auch bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) für 72 Stunden zu gewährleisten. Die akzeptable Wiederfindung für die Roll-Plate-Methode wurde als ≥5 KBE nach der angegebenen Aufbewahrungszeit bei der angegebenen Verdünnung definiert, welche eine Zählung beim Zeitpunkt Null so nah wie möglich bei 300 KBE gibt.

Die Performancestudien der Vitalität umfassen auch eine Beurteilung des übermäßigen Bakterienwachstums bei gekühlter Temperatur (4 - 8 °C). Für die Elutionsmethode des Tupfers wurde eine Bewertung des übermäßigen Wachstums aller Bakterienarten nach 48 Stunden Aufbewahrung getestet. Die Bewertung des übermäßige Wachstums mit Einsatz der Elutionsmethode des Tupfers ist als größere Zunahme als 1 log10 zwischen Nullzeit der Zählung der KBE und der Aufbewahrungszeit definiert. Für die Roll-Plate-Methode wird die Bewertung des übermäßige Wachstums mit einer separaten Analyse bewertet, bei der die Tupfer mit 100 µl, mit 10^2 KBE Pseudomonas aeruginosa Kultur dosiert wurden. Das übermäßige Wachstum unter diesen Bedingungen ist als größere Zunahme als 1 log10 der KBE zwischen Nullzeit der Zählung der KBE und der Aufbewahrungszeit von 48 Stunden definiert.
Das Copan MSwab™ System zeigte kein übermäßiges Wachstum auf der Grundlage der im Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A beschriebenen Zulassungskriterien.

Das Copan MSwab™ System war in der Lage die Vitalität der folgenden Organismen unter den oben beschriebenen Testbedingungen sowohl bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) als auch bei Kühlung (4 - 8 °C) für mindestens 48 Stunden zu gewährleisten. Herpes Simplex Virus Typ 1, Herpes Simplex Virus Typ 2.

Erhaltung von Nukleinsäuren

Die mit MSwab™ genommenen Proben zur Analyse mit Amplifikationstechniken von Nukleinsäuren müssen innerhalb von 14 Tagen verarbeitet werden, wenn sie bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) gelagert werden, innerhalb von 21 Tagen bei Lagerung bei 4 °C und innerhalb von 6 Monaten, wenn bei -20 °C gelagert.
Leistungstests mit Copan MSwab™ wurden mit Suspensionen von Laborstämmen auf dem FLOQSwab-Tupfer im Verbindung mit dem Medium ausgeführt. Zu den getesteten Stämmen gehören: B. pertussis (ATCC 8467), S. aureus (Methicillin-resistent) (ATCC 43300), E. coli O157-H7 (ATCC 700 728), S. typhimurium (ATCC 14028), C. difficile (ATCC 9689), Influenza-A-Virus (ATCC VR-822), Influenza-B-Virus (ATCC VR-786), Neisseria gonorrhoeae ATCC 43069 and Chlamydia trachomatis ATCC VR880. Die Leistungstests wurden nicht unter Verwendung menschlicher Proben oder Matrizen menschlichen Ursprungs durchgeführt.

Die erzielten Ergebnisse hängen weitgehend von der ordnungsgemäßen und geeigneten Probenahme, sowie dem zeitnahen Transport und Verarbeitung im Labor ab.

Système de récolte, conservation et transport «Copan MSwab™» pour applications moléculaires et culture - Notice et Mode d'emploi

Voir le glossaire des symboles à la fin de la notice

USAGE PRÉVU

Le système de prélèvement, transport MSwab™ est utilisé pour le prélèvement et le transport d'échantillons cliniques du site où a lieu le prélèvement jusqu'au laboratoire d'analyses. Une fois au laboratoire, les échantillons MSwab™ peuvent être analysés moyennant des procédures cliniques standard pour :
• la culture bacterérienne d'organismes aérobies et anaérobies facultatives à gram positif
• la culture de virus HSV 1 et HSV 2
• la recherche d'acides nucléiques et de virus.

SOMMAIRES ET PRINCIPES

Une des procédures de routine dans le diagnostic des infections demande le prélèvement et le transport en toute sécurité des tampons. Ce qui peut s'obtenir en utilisant Copan MSwab™ qui est un système de prélèvement, transport et conservation. Copan MSwab™ incorpore un milieu de transport et conservation conçu de manière à conserver la vitalité des bactéries aérobies et anaérobies facultatives à Gram positif, HSV 1 et HSV 2 pendant le transport jusqu'au laboratoire d'analyses. Copan MSwab™ conserve les acides nucléiques d'agents pathogènes à identifier avec des techniques d'amplification moléculaire (NAAT).

Le système de prélèvement, transport et conservation Copan MSwab™ est fourni en trois formats différents :
a) Format kit de prélèvement. Chaque kit de prélèvement se compose d'un emballage contenant une éprouvette avec bouchon à vis, avec fond conique contenant 1 ml de milieu de prélèvement et transport MSwab™, ainsi que d'un sachet stérile à ouverture facilitée contenant un écouvillon FLOQSwab™ pour le prélèvement d'échantillons et dont l'extrémité est recouverte d'une fibre de nylon.
b) Format éprouvette seulement. Une éprouvette avec bouchon à vis, avec fond conique contenant 1 ml ou 2 ml de milieu de transport et conservation MSwab™.
c) Format kit de prélèvement avec écouvillon de nettoyage. Chaque kit de prélèvement se compose d'un emballage contenant une éprouvette avec bouchon à vis, avec fond conique contenant 2 ml de milieu de prélèvement et transport MSwab™, ainsi que d'un sachet stérile à ouverture facilitée contenant un écouvillon FLOQSwab™ pour le prélèvement d'échantillons dont l'extrémité est recouverte d'une fibre de nylon et d'un sachet stérile à ouverture facilitée contenant un écouvillon de nettoyage avec une pointe plus large en fibre enroulée pour l'élimination de la glaire vaginale.

Une fois l'échantillon prélevé sur l'écouvillon, il faut l'introduire immédiatement dans l'éprouvette MSwab™ pour le transport. Les échantillons prélevés moyennant MSwab™ à analyser avec des techniques de culture bactérienne ou virus doivent être transportés directement au laboratoire, de préférence dans les 2 heures consécutives au prélèvement (1, 2, 7) afin de conserver au mieux la vitalité des microorganismes. Si la livraison ou l'analyse immédiates sont retardées, les échantillons doivent être réfrigérés à 4 – 8º C ou conservés à température ambiante (20 – 25° C) et analysés dans les 48 heures. Les études sur la vitalité des bactéries de Staphylococcus aureus, ATCC 29213 et ATCC 6538, et de Staphylococcus aureus (résistant à la méticilline) ATCC 43300 et ATCC 700698 démontrent que la vitalité des microorganismes testés dure jusqu'à 14 jours dans un milieu réfrigéré (4 – 8° C) ou 72 heures à température ambiante (20 – 25° C). Des études scientifiques indépendantes sur les systèmes de transport des écouvillons démontrent que pour certaines bactéries la vitalité est supérieure s'ils sont soumis à une réfrigération par rapport à la température ambiante (12 – 21). Si les échantillons viraux doivent être congelés il faut les porter à -70ºC.
Les échantillons prélevés avec MSwab™ pour la recherche d'acides nucléiques bactériens ou viraux doivent être analysés dans les 14 jours si conservés à température ambiante (20-25°C), dans les 21 jours si conservés à 4°C et dans les 6 mois si conservés à -20°C.

RÉACTIFS

Formulation du milieu de transport MSwab™
TRIS HCl
EDTA
TRIS Base
Diméthylsulfoxyde (DMSO)
Albumine de sérum bovin
Eau distillée

PRÉCAUTIONS

1. Ce produit est destiné exclusivement à l'usage diagnostic in vitro.
2. Adopter les précautions relatives au risque biologique et les techniques d'asepsie approuvées. Il ne faut employer que du personnel formé et qualifié.
3. Tous les échantillons et les matériaux utilisés pour les traiter, doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés avec des modalités permettant d'éviter l'infection du personnel de laboratoire. Après l'utilisation stériliser tous les déchets à risque biologique, y compris les échantillons, les récipients et les milieux. Respecter les autres recommandations relatives au Niveau 2 de biosécurité promulguées par le CDC (31, 32, 33, 34).
4. Les instructions doivent être lues et suivies avec soin.

CONSERVATION

Le produit est prêt à être utilisé et il n'a besoin d'aucune autre préparation. Il doit être conservé dans le récipient original à 5 – 25° C jusqu'au moment de l'utilisation. Ne pas surchauffer. Ne pas incuber ou congeler avant l'utilisation. Si le produit est mal conservé son efficacité diminuera. Ne pas utiliser après la date de péremption qui est clairement indiquée sur le récipient à l'extérieur ainsi que sur chaque unité de prélèvement et sur l'étiquette de l'éprouvette de transport de l'échantillon.

DÉTÉRIORATION DU PRODUIT

Le Copan MSwab™ ne doit pas être utilisé s'il (1) y a des traces évidentes d'endommagement ou de contamination du produit, (2) s'il y a des traces de fuite évidentes, (3) si la date de péremption est dépassée, (4) si l'emballage de l'écouvillon est ouvert, (5) s'il y a d'autres signes de détérioration.

PRÉLÈVEMENT, CONSERVATION ET TRANSPORT DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons prélevés pour des analyses microbiologiques qui prévoient l'isolement de bactéries ou de virus doivent être prélevés et manipulés conformément aux lignes directrices et aux manuels publiés (7, 8, 4).

Afin de conserver la vitalité optimale des microorganismes et l'intégrité des acides nucléiques, transporter les échantillons prélevés à l'aide de MSwab™ directement au laboratoire dans les 2 heures qui suivent le prélèvement (1, 2, 7). Si la livraison ou l'analyse immédiate sont retardées, les échantillons doivent être réfrigérés à 4 – 8º C ou conservés à température ambiante (20 – 25° C) et analysés dans les 48 heures. Les études sur la vitalité des bactéries de Staphylococcus aureus, ATCC 29213 et ATCC 6538, et de Staphylococcus aureus (résistant à la méticilline) ATCC 43300 et ATCC 700698 démontrent que la vitalité des microorganismes testés dure jusqu'à 14 jours dans un milieu réfrigéré (4 – 8° C) ou 72 heures à température ambiante (20 – 25° C). Si les échantillons viraux doivent être congelés il faut les porter à -70º C.

Les échantillons prélevés avec MSwab™ pour être analysés moyennant NAAT doivent être analysés dans les 14 jours si conservés à température ambiante (20-25°C), dans les 21 jours si conservés à 4°C et dans les 6 mois si conservés à -20°C.

Les conditions requises spécifiques pour l'expédition et la manipulation doivent être entièrement conformes aux normes nationales et fédérales (34, 35, 36, 37). L'expédition d'échantillons à l'intérieur d'instituts médicaux doit être conforme aux lignes directrices internes de l'institut. Tous les échantillons doivent être soumis à des analyses dès qu'ils sont reçus par le laboratoire.

MATÉRIEL FOURNI

L'emballage pour la vente contient cinquante (50) MSwab™ unités de prélèvement, et dans un carton il y a 6 x 50 unités.
Le système de prélèvement, transport et conservation Copan MSwab™ est fourni en trois formats différents :
a) Format kit de prélèvement. Chaque kit de prélèvement se compose d'un emballage contenant une éprouvette avec bouchon à vis, avec fond conique contenant 1 ml de milieu de prélèvement et transport MSwab™, ainsi que d'un sachet stérile à ouverture facilitée contenant un écouvillon FLOQSwab™ pour le prélèvement d'échantillons et dont l'extrémité floquée est recouverte d'une fibre de nylon.
b) Format éprouvette seulement. Une éprouvette avec bouchon à vis en plastique, avec fond conique contenant 1 ml ou 2 ml de milieu de transport et conservation MSwab™.
c) Format kit de prélèvement avec écouvillon de nettoyage. Chaque kit de prélèvement se compose d'un emballage contenant une éprouvette avec bouchon à vis, avec fond conique contenant 2 ml de milieu de prélèvement et transport MSwab™, ainsi que d'un sachet stérile à ouverture facilitée contenant un écouvillon FLOQSwab™ pour le prélèvement d'échantillons dont l'extrémité est recouverte d'une fibre de nylon et d'un sachet stérile à ouverture facilitée contenant un écouvillon de nettoyage avec une pointe plus large en fibre enroulée pour l'élimination de la glaire vaginale.

Il existe deux types d'écouvillons pour le prélèvement des échantillons : un écouvillon de dimensions standard avec pointe floquée en nylon destiné au prélèvement d'échantillon dans gorge, vagin, plaie, rectum et selles ; un écouvillon nasal avec pointe floquée en nylon pour le prélèvement naso-pharyngien. Tous les écouvillons floqués fournis par MSwab™ ont un point de fracture sur la tige de l'écouvillon, indiqué par un trait coloré. Après le prélèvement de l'échantillon sur le patient, le point de fracture facilite la rupture de l'applicateur dans l'éprouvette contenant le terrain de transport MSwab™.
La conformation interne particulière des bouchons des éprouvettes, en forme d'entonnoir, permet en outre l'ancrage de la tige de l'écouvillon après la rupture. Car en vissant le bouchon sur l'éprouvette, l'extrémité de la tige se déplace dans la cavité du bouchon. Quand l'éprouvette est ouverte dans le laboratoire d'analyses l'applicateur reste accroché au bouchon et l'opérateur peut facilement enlever l'écouvillon de l'éprouvette et effectuer les analyses microbiologiques en se servant du bouchon comme d'un manche.
Par contre le bouchon avec la particularité d'ancrage de la tige n'est pas prévu pour les écouvillons pour le nez (6E013N) car, étant donné qu'ils sont très flexibles, il serait impossible de les bloquer fermement à l'intérieur de la cavité.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS QUI N'EST PAS FOURNI

Matériel convenant pour l'isolement et la culture de bactéries aérobies et anaérobies facultatifs.
Parmi ce matériel il y a également des boîtes et des éprouvettes de culture et des systèmes d'incubation. Pour les protocoles recommandés relatifs aux techniques de culture et identification des bactéries aérobies et anaérobies facultatifs d'écouvillons pour échantillons cliniques se reporter aux manuels de laboratoire (2, 4).
Matériel adapté pour l'isolement, la différenciation et la culture de virus. Ce matériel comprend des lignes cellulaires pour la culture de tissus, milieu de culture pour tissus, systèmes d'incubation et instruments de lecture. Se reporter aux références appropriées pour les protocoles recommandés pour l'isolement et l'identification de virus (1, 7).
Matériel convenant pour l'extraction et l'amplification d'acides nucléiques pour des tests de biologie moléculaire. Bloc chauffant et centrifuge pour méthodes d'extraction rapide. Se reporter aux manuels de laboratoire de référence pour l'identification et l'amplification d'acides nucléiques dans des échantillons cliniques venant d'écouvillons.

Avec des méthodes d'extraction rapide, il est conseillé de transférer la quantité appropriée de MSwab™ (se reporter au paragraphe Traitement des échantillons MSwab™ pour analyses moléculaires en laboratoire, Méthode B) dans des éprouvettes Copan avec des billes de verre (disponible séparément code 2E013S050)

MODE D'EMPLOI

Le système de prélèvement, conservation et transport Copan MSwab™ est disponible dans les configurations produit spécifiées dans le tableau suivant.

Tableau 1

N° de catalogue	Description Produits Copan MSwab™	Contenu emballages
6E012N	Emballage à usage unique pour prélèvement d'échantillons contenant : - Éprouvette de 12x80 mm avec bouchon à vis contenant 1 ml de milieu de transport et conservation MSwab™ - Un tampon FLOQSwab de dimensions standard avec pointe floquée en nylon, stérile et emballé séparément.	50 unités /boîte 6x50 unités/ carton
6E013N	Emballage de prélèvement des échantillons à usage unique contenant : - Éprouvette de 12x80 mm avec bouchon à vis contenant 1 ml de milieu de transport et conservation MSwab™ - Un tampon FLOQSwab nasal avec pointe floquée en nylon, stérile et emballé séparément.	50 unités /boîte 6x50 unités/ carton
6E011N	Éprouvette pour transport et conservation simple : - 1 ml de milieu de transport et conservation MSwab™ dans une éprouvette 12 x 80 mm à fond conique et bouchon à vis	50 unités /boîte 6x50 unités/ carton
6U019N	Éprouvette pour transport et conservation simple : - 2 ml de milieu de transport et conservation MSwab™ dans une éprouvette 12 x 80 mm à fond conique et bouchon à vis	50 unités /boîte 6x50 unités/ carton
6E028N.MER	Emballage à usage unique pour prélèvement d'échantillons contenant : - Éprouvette de 12x80 mm avec bouchon à vis contenant 2 ml de milieu de transport et conservation MSwab™ - Un tampon FLOQSwab de dimensions standard avec pointe floquée en nylon, stérile et emballé séparément. -Un écouvillon en fibre enroulée à pointe large, stérile et emballé séparément.	50 unités /boîte 6x50 unités/ carton

D'autres références produit sont disponibles. Pour mises à jour visiter notre web : www.copanflock.com

Prélèvement des échantillons

Il est fondamental de prélever les échantillons sur le patient de manière correcte pour que l'isolement et l'identification des organismes infectants se fassent avec succès. Pour des détails supplémentaires sur les procédures de prélèvement consulter les manuels de prélèvement publiés à cet effet (7, 2,).

Ne pas utiliser le milieu MSwab™ pour humidifier ou mouiller le tampon avant le prélèvement de l'échantillon biologique ou pour rincer ou irriguer la zone de prélèvement.

Pour les codes MSwab™ 6E012N et 6E013N :

1. Ouvrir l'emballage du kit et sortir l'éprouvette du milieu de transport et le sachet interne qui contient l'écouvillon stérile (voir Figure 1).
2. Enlever l'écouvillon de prélèvement du sachet à ouverture facilitée et s'en servir pour prélever l'échantillon clinique. L'opérateur doit toucher l'applicateur de l'écouvillon seulement au dessus du point de fracture coloré, comme illustré sur la Figure 1, qui se trouve à l'extrémité opposée de la pointe en nylon floqué. Pendant la manipulation de l'applicateur de l'écouvillon, l'opérateur ne doit jamais toucher la zone en dessous du point de fracture (la zone qui va de la ligne jusqu'à la pointe floquée en nylon de l'écouvillon) car cela provoquerait la contamination de la tige de l'applicateur et par conséquent de la culture.
3. Prélever l'échantillon sur le patient.
4. Dévisser et enlever le bouchon de l'éprouvette MSwab™ en veillant à ne pas faire sortir le milieu de transport.
5. Insérer l'écouvillon dans l'éprouvette jusqu'à ce que le point de fracture indiqué en rouge se trouve au niveau du goulot de l'éprouvette.
6. Plier et briser l'écouvillon au niveau du point de fracture indiqué en rouge comme indiqué sur la Figure 1 et en gardant l'éprouvette loin du visage.
7. Éliminer le manche brisé de la tige de l'éprouvette en le mettant dans un récipient destiné à l'élimination des déchets sanitaires.
8. Remettre le bouchon sur l'éprouvette et bien visser.
9. Reporter les données du patient sur l'étiquette de l'éprouvette ou appliquer l'étiquette d'identification de celui-ci. Envoyer l'échantillon au laboratoire d'analyses.

Pour le code MSwab™ 6E028N.MER :

1. Ouvrir l'emballage du kit, enlever l'éprouvette contenant le milieu de transport et les deux sachets à l'intérieur dont un contient l'écouvillon stérile et l'autre celui de nettoyage « Cleaning Swab » avec la pointe large.
2. L'emploi de l'écouvillon de nettoyage est conseillé seulement en cas de procédure de prélèvement de l'échantillon endocervical. L'écouvillon de net toyage (écouvillon avec bouton large en fibre) – v. fig.1, est utilisé seulement pour enlever l'excès de mucus présent au niveau de l'ouverture du col de l'utérus et des muqueuses environnantes. **Après l'emploi, jeter l'écouvillon.**
   En cas de procédure de prélèvement d'échantillons autres qu'endocervicaux, l'écouvillon de nettoyage large ne doit pas être utilisé mais doit être jeté.
3. Pour le prélèvement d'échantillon clinique suivre les instructions reportées pour les codes 6E012N et 6E013N à partir du point 2 et à suivre.

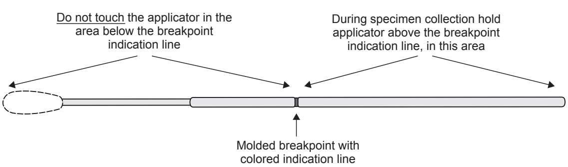
Pour les codes MSwab™ 6E011N et 6U019N :

1. Après avoir prélevé l'échantillon sur le patient à l'aide d'un écouvillon, dévisser et enlever le bouchon de l'éprouvette MSwab™ en veillant à ne pas faire sortir le milieu de transport.
2. Insérer l'écouvillon dans l'éprouvette.
3. Si l'écouvillon a un point de fracture, plier et briser l'écouvillon au niveau du point de fracture en gardant l'éprouvette loin du visage.
4. Remettre le bouchon sur l'éprouvette et bien visser.
5. Reporter les données du patient sur l'étiquette de l'éprouvette ou appliquer l'étiquette d'identification de celui-ci. Envoyer l'échantillon au laboratoire d'analyses.

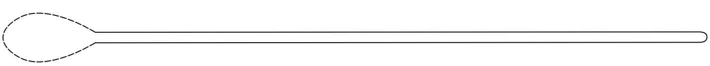
Fig 1. Écouvillon pour prélèvement avec l'indication du point de fracture et de la zone pour la manipulation de l'applicateur.



COLLECTION SWAB



CLEANING SWAB



L'opérateur ne doit toucher que la partie de la tige de l'applicateur de l'écouvillon au dessus de l'indication du point de fracture comme indiqué sur la Fig. 1. Après avoir prélevé l'échantillon avec l'écouvillon sur le patient, briser la tige de l'applicateur de l'écouvillon au niveau de la ligne de fracture colorée, dans l'éprouvette MSwab™ contenant le milieu de transport MSwab™. L'opérateur doit ensuite jeter la partie de l'écouvillon détachée de cette manière dans un contenant pour déchets sanitaires approuvé. Reboucher l'éprouvette avec le bouchon à vis et serrer avec beaucoup de force. Le fait de visser le bouchon sur l'éprouvette pousse l'extrémité de la tige de l'applicateur dans un réceptacle en forme d'entonnoir dans le bouchon (voir Fig. 2). Cette cavité moulée en forme d'entonnoir capture l'extrémité de la tige de l'applicateur brisée et la bloque par friction.

Fig 2. Ancrage de la tige brisée de l’écouvillon moyennant le bouchon de l’éprouvette MSwab™



La Fonction Bouchon Préhensile n’est garantie qu’avec l’utilisation du Tampon Floqué Copan de dimensions standard

Dans le laboratoire d’analyses, quand le bouchon MSwab™ est dévissé et enlevé, la tige de l’applicateur de l’écouvillon est solidement fixée au bouchon. Cette fonction permet à l’opérateur d’enlever facilement l’écouvillon et d’effectuer les différentes analyses microbiologiques en utilisant le bouchon de l’éprouvette comme un manche pour saisir et manipuler l’écouvillon.

REMARQUE SUR LA FONCTION DE CAPTURE DU BOUCHON:
Le bouchon a une forme qui lui permet d’ancrer l’écouvillon quand est utilisé et brisé à l’intérieur de l’éprouvette un Tampon Floqué Copan avec des dimensions régulières. Si l’on utilise un écouvillon nasal la fonction de capture n’est pas garantie.
L’écouvillon nasal (6E013N) doit être retiré de l’éprouvette avec beaucoup d’attention tout de suite avant d’effectuer l’analyse de l’échantillon. C’est une précaution qui permet d’éviter la chute accidentelle de l’échantillon du bouchon.

Traitement des échantillons MSwab™ en laboratoire – Bactériologie

Les échantillons MSwab™ doivent être traités pour la culture bactériologique en utilisant les milieux de culture moyennant les techniques de laboratoire recommandées, celles-ci dépendent du type d’échantillon et de l’organisme soumis à analyse. Pour les terrains et les techniques de culture pour l’isolement et l’identification de bactéries provenant des échantillons des écouvillons cliniques, se reporter aux manuels et aux lignes directrices publiées relatifs à la microbiologie (1-6).
Les analyses sur les cultures d’échantillons pour la recherche de la présence de bactéries impliquent l’utilisation de routine de milieu de culture agar solide dans des boîtes de Petri. La procédure d’inoculation des échantillons MSwab™ sur agar solide dans des boîtes de Petri est la suivante.

Remarque : Pendant la manipulation des échantillons cliniques, porter des gants en latex et tous les équipements de protection nécessaires. Respecter les autres recommandations relatives au Niveau 2 de biosécurité promulguées par le CDC (31, 32, 33, 34).

Vortexer l’éprouvette MSwab™ contenant l’échantillon de l’écouvillon pendant 5 secondes pour détacher l’échantillon de la pointe de l’écouvillon, et disperser et mettre en suspension l’échantillon patient de manière uniforme dans le milieu de culture.

1. Dévisser le bouchon MSwab™ et enlever l’applicateur de l’écouvillon.
2. Déplacer la pointe de l’applicateur MSwab™ sur la surface d’un cadran contenant le milieu de culture pour effectuer l’inoculation primaire.
3. S’il est nécessaire de soumettre à culture l’échantillon de l’écouvillon dans une deuxième boîte de culture, remettre l’applicateur MSwab™ pendant deux secondes dans l’éprouvette, pour permettre à la pointe de l’applicateur d’absorber et de se recharger avec la suspension de milieu de culture / échantillon patient et répéter le Pas n° 3.
4. S’il est nécessaire d’inoculer d’autres boîtes de culture, reporter l’applicateur MSwab™ dans l’éprouvette contenant le milieu de transport, et recharger la pointe de l’applicateur avec la suspension de milieu de culture / échantillon patient avant d’inoculer chaque boîte supplémentaire.

La procédure décrite ci-dessus utilise l’applicateur MSwab™ comme une oese pour inoculation pour transférer la suspension de l’échantillon patient dans le milieu de transport jusqu’à la surface de la boîte de culture, en créant l’inoculation primaire (voir Fig. 3).
En alternative, l’opérateur peut vortexer l’éprouvette MSwab™ avec l’écouvillon à l’intérieur pendant 5 secondes, puis transférer 100µl de suspension sur chaque boîte de culture à l’aide d’une pipette volumétrique à pointe stérile. Pour passer l’inoculation primaire de l’échantillon patient sur la surface de la boîte suivre les procédures standard de laboratoire (voir Fig 4).

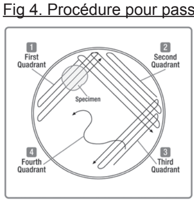
Fig 3. Procédures d’inoculation des échantillons MSwab™ sur agar solide dans des boîtes de Petri



1. Utilisation de l’écouvillon pour inoculer l’échantillon

2. Utilisation de la pipette et des pointes stériles pour inoculer 100µl d’échantillon Cette procédure d’inoculation est à préférer si l’échantillon clinique est analysé également avec des techniques NAAT.

Fig 4. Procédure pour passer les échantillons MSwab™ sur des boîtes de Petri pour l’isolement primaire (33)



Effectuer une inoculation primaire d’échantillon MSwab™ sur la surface d’une boîte culture sur agar dans le premier cadran.

Utiliser une oese stérile pour bactériologie pour passer l'inoculation primaire sur la surface du deuxième, troisième et quatrième cadran de la boîte de culture sur agar.

Préparation de bandes avec coloration de Gram d'échantillons MSwab™

L'analyse de laboratoire des échantillons sur des écouvillons cliniques prélevés sur certaines parties du patient peut comprendre de routine l'examen au microscope de préparations colorées (« bandes directes ») en utilisant la procédure de coloration de Gram. Ce qui permet aux médecins qui soignent des patients avec des maladies infectieuses d'obtenir des informations importantes (22). En effet dans de nombreux cas une coloration de Gram peut aider à formuler un diagnostic (23, 27). La coloration de Gram peut également contribuer à évaluer la qualité des échantillons et contribuer à la sélection des milieux de culture, en particulier dans le cas de flore mixte.
Les lames de microscope des échantillons patient transportées dans le système de transport Copan MSwab™ peuvent être préparées pour l'analyse de la coloration de Gram, comme décrit ci-après, en échantillonnant une partie de la suspension vortexée de l'échantillon (3, 4). Les échantillons transportés avec le milieu d'élution MSwab™ représentent une suspension homogène en phase liquide. Le frottis peut se faire de manière uniforme ce qui permet une lecture claire et simple.

Remarque : Pendant la manipulation des échantillons cliniques, porter des gants en latex et tous les équipements de protection nécessaires. Respecter les autres recommandations relatives au Niveau 2 de biosécurité promulguées par le CDC (31, 32, 33, 34).

1. Prendre une lame de microscope propre, la poser sur une surface plate et avec une pointe diamantée ou quelque chose du même genre faire une marque pour entourer la zone pour identifier la position de l'inoculation de l'échantillon. Remarque : on peut également utiliser une lame avec pré-marquage de 20 mm.

2. Vortexer l'éprouvette MSwab™ contenant l'échantillon de l'écouvillon pendant 5 secondes pour détacher l'échantillon de la pointe de l'écouvillon, et disperser et mettre en suspension l'échantillon patient de manière uniforme dans le milieu de culture.

3. Dévisser le bouchon MSwab™ et, à l'aide d'une pipette stérile, transférer 1 – 2 gouttes de suspension de l'échantillon sur la surface gravée sur le verre.
Remarque : 30 µl environ correspondent à une quantité de liquide d'une zone pré-marquée de 20 mm de diamètre.
Avec des échantillons denses ou qui contiennent du sang, faire attention et étaler finement l'échantillon sur la lame. Il est difficile de relever les bactéries si l'échantillon reporte de nombreux globules rouges et des déchets.

4. Attendre que l'échantillon sèche sur la lame à température ambiante, ou la mettre dans un dispositif de chauffage électrique ou un incubateur pour lames à une température ne dépassant pas 42° C.

5. Fixer les frottis avec du méthanol. La fixation au méthanol est conseillée car elle empêche la lyse des globules rouges, permet d'éviter l'endommagement des cellules-hôtes et donne l'assurance d'un fond plus propre (3, 4, 22).

6. Pour la coloration de Gram suivre les lignes directrices et les manuels de référence. Si l'on utilise des réactifs pour coloration de Gram commerciaux, il est indispensable de suivre les instructions contenues dans la brochure du producteur pour la procédure du test de performance.

Pour des informations supplémentaires ou des instructions pour la préparation des lames des échantillons pour l'analyse microscopique, pour des informations sur les procédures pour la coloration de Gram et pour l'interprétation et le reporting des analyses au microscope, consulter les manuels de laboratoire de référence publiés (1 - 5, 22 - 27).

Traitement des échantillons MSwab™ en laboratoire – Virologie

La survivance de HSV 1 et de HSV 2 dépend de nombreux facteurs, y compris le type et la concentration du microorganisme, la durée du transport et la température de conservation. Afin de conserver une vitalité optimale, transporter les échantillons directement au laboratoire dans les 2 heures qui suivent le prélèvement (1, 2, 7, 29). Si la livraison ou l'analyse immédiate sont retardées, les échantillons prélevés à l'aide du système de prélèvement, transport et conservation MSwab™ doivent être réfrigérés à 4–8° C ou conservés à température ambiante (20 – 25° C) et traités dans les 48 heures. Si les échantillons doivent être congelés il faut les porter à -70° C.

Dans les études de simulation de transport et conservation, le système Copan MSwab™ a démontré qu'il est en mesure de conserver la vitalité de HSV 1 et de HSV 2 dans des conditions de température réfrigérée (4-8° C) et à température ambiante (20-25° C) jusqu'à 48 heures. Sur la base des études sur les performances effectuées par Copan et résultant de publications scientifiques indépendantes, la vitalité de certains microorganismes est supérieure à une température réfrigérée par rapport à celle ambiante (12 – 21, 29).

Les échantillons MSwab™ doivent être traités pour la culture virologique en utilisant les lignes cellulaires et les techniques de laboratoire recommandées, qui dépendent du type d'échantillon et de l'organisme soumis à analyse. Pour les shell vials et les techniques recommandées pour l'isolement et l'identification de HSV 1 et HSV 2 des échantillons –écouvillons cliniques, se reporter aux lignes directrices et aux manuels de virologie publiés (1 – 6, 29, 30).

Les analyses des cultures d'échantillons sur écouvillons pour la présence de HSV 1 et HSV 2 impliquent systématiquement l'utilisation de cultures cellulaires dans des shell vials. La procédure d'inoculation des échantillons MSwab™ dans les shell vials est décrite ci-après.

1. Remarque : Pendant la manipulation des échantillons cliniques, porter des gants en latex et tous les équipements de protection nécessaires. Respecter les autres recommandations de BSL 2.
2. Vortexer l'éprouvette MSwab™ contenant l'échantillon de l'écouvillon pendant 5 secondes pour détacher l'échantillon de la pointe de l'écouvillon, et disperser et mettre en suspension l'échantillon patient de manière uniforme dans le milieu de culture.
3. Dévisser le bouchon MSwab™ et enlever l'applicateur de l'écouvillon.
4. Transférer des volumes de 200 µl de la suspension dans le shell vial et suivre ensuite la procédure du laboratoire.

REMARQUE: Les échantillons patient pouvant contenir une charge élevée en contaminants bactériens pourraient demander l'ajout d'antibiotiques au milieu de conservation et culture des cellules.

5. Utiliser les techniques appropriées de détection des virus.

Traitement des échantillons MSwab™ pour des analyses moléculaires en laboratoire

Pour les échantillons sur lesquels est prévue la recherche d'acides nucléiques il est conseillé d'effectuer l'analyse tout de suite après l'arrivée au laboratoire. En cas de retard suivre les conditions de conservation relatives.

REMARQUE: Pour manipuler des échantillons cliniques mettre des gants en latex et d'autres équipements de protection générale. Respecter le niveau de biosécurité

(BSL) 2 fixé par le CDC (31, 32, 33, 34).
En utilisant des méthodes moléculaires prendre les précautions nécessaires pour éviter que se répande la contamination. La séparation des espaces de travail et un flux de travail qui soit unidirectionnel sont des conditions fondamentales pour éviter toute contamination de l'amplicon (35).

La formulation du milieu MSwab™ a été développée de manière à être compatible avec PCR Master Mix; ce qui rend le MSwab™ adapté à des applications directes d'amplification d'acides nucléiques sans la nécessité d'un passage d'extraction standard et de purification.
Deux méthodes différentes (A et B) peuvent être appliquées pour le traitement des échantillons MSwab™ :

A) Méthode d'extraction standard
1. Mixer l'éprouvette MSwab™ dans un vortex pendant 10 secondes, dévisser le bouchon et, en le gardant entre le pouce et l'index, le faire tourner pour faire sortir la plus grande partie du fluide par la pointe.

REMARQUE: Par contre le bouchon avec la particularité d'ancrage de la tige n'est pas prévu pour les écouvillons pour le nez (6E013N) car, étant donné qu'ils sont très flexibles, il serait impossible de les bloquer fermement à l'intérieur de la cavité. Dans ce cas, après avoir fait sortir le liquide par la pointe, extraire l'applicateur de l'éprouvette à l'aide d'une pincette.

2. Éliminer l'écouvillon et transférer la quantité appropriée d'échantillon (par ex. 200 ul) dans une éprouvette d'extraction en suivant les procédures de laboratoire normales.
3. Effectuer ces opérations conformément aux procédures d'extraction et amplification des kits utilisés.

Le système MSwab™ a été validé avec les méthodes d'extraction suivantes : membrane de gel de silice (Qiagen, Macherey & Nagel), billes magnétiques (EasyMAG, Qiasymphony, Magnapure). D'autres méthodes d'extraction peuvent être appliquées mais seulement après validation.

B) Méthode d'extraction rapide

Pour la recherche de contaminations virales, un passage avec choc thermique est conseillé pour détacher les échantillons.

1. Vortexer l'éprouvette originale de l'échantillon MSwab™ pendant 10 secondes.

REMARQUE: Par contre le bouchon avec la particularité d'ancrage de la tige n'est pas prévu pour les écouvillons pour le nez (6E013N) car, étant donné qu'ils sont très flexibles, il serait impossible de les bloquer fermement à l'intérieur de la cavité.

2. À l'aide d'une micropipette, transférer 200 ul de l'échantillon MSwab™ dans une micro-éprouvette stérile contenant des billes de verre (2E013S50 : éprouvette Copan avec billes de verre, disponible séparément) et vortexer pendant 10 secondes. Conserver l'échantillon de MSwab™ d'origine pour des cultures ou des tests supplémentaires.
3. Chauffer la micro-éprouvette dans un thermostat programmé sur 98°-100°C pendant au moins :
   - 3 minutes pour Virus
   - 10 minutes pour bactéries à gram positif
   - 5 minutes pour bactéries à gram négatif
4. Refroidir l'éprouvette à température ambiante pendant 5 minutes.
5. Centrifuger la micro-éprouvette à 10000xg pendant 2 minutes pour sédimenter les détritus cellulaires.
6. Transférer une partie de l'échantillon MSwab™ traité dans la master mix et effectuer le passage d'amplification conformément à la procédure du kit d'am plification.

La méthode d'extraction rapide décrite ci-dessus a été testée avec R-Biopharm RIDA®GENE Real Time PCR kits, Seegene Anyplex FluA/B Typing Real Time detection kit et avec Genesig Real Time PCR kits by Primer Design en comparaison avec des méthodes d'extraction rapide. D'autres méthodes d'amplification PCR peuvent être appliquées après validation. Les souches testées comprennent : B. pertussis (ATCC 8467), S. aureus (résistant à la méticilline) (ATCC 43300), E. coli O157-H7 (ATCC 700728), S. tiphimurium (ATCC 14028), C. difficile (ATCC 9689), Virus grippal de type A(ATCC VR-822), Virus grippal de type B(ATCC VR 786), Neisseria gonorrhoeae (ATCC 43069) et Chlamydia trachomatis (ATCC VR880). Les tests n'ont pas été conduits en utilisant des matrices d'origine humaine.

Les résultats obtenus dépendent en grande partie de l'efficacité des opérations de prélèvement, transport et analyse en laboratoire.

CONTRÔLE QUALITÉ
Les applicateurs MSwab™ sont testés pour garantir qu'ils ne sont pas toxiques pour les bactéries. Le milieu de transport et les applicateurs MSwab™ sont testés pour garantir qu'ils ne soient pas toxiques avec les lignes cellulaires utilisées pour la culture de HSV 1 et de HSV 2. Le milieu de transport MSwab™ est testé par rapport à la stabilité du pH et pour l'absence d'inhibiteurs moyennant techniques d'amplification directe (9). L'MSwab™ est soumis à un test de contrôle qualité avant la commercialisation par rapport à sa capacité de conserver la vitalité des bactéries aérobies et anaérobies facultatifs à Gram positif et des virus HSV à température ambiante (20 – 25° C) pour des périodes spécifiques. Les procédures de contrôle qualité des dispositifs de transport microbiologique doivent être effectuées conformément aux méthodes de test décrites par le Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A et par d'autres publications (9). Si l'on trouve des résultats de contrôle qualité aberrants, les résultats pour le patient ne doivent pas être reportés.

RESTRICTIONS
1. En laboratoire, pendant la manipulation des échantillons cliniques, porter des gants en latex et tous les équipements de protection nécessaires. Au cours de la manipulation ou de l'analyse de l'échantillon patient, respecter le niveau de biosécurité 2 fixé par le CDC (31, 32, 33, 34).
2. Les conditions, les temps de réalisation et le volume des échantillons prélevés pour la culture constituent des variables significatives pour obtenir des résultats de culture fiables. Suivre les lignes directrices recommandées pour le prélèvement des échantillons (7, 8, 4).
3. MSwab™ est destiné à servir de milieu de prélèvement et transport pour des bactéries à Gram positif aérobies et anaérobies facultatives, virus HSV 1 et HSV 2 et pour la recherche d'acides nucléiques de bactéries et virus.
   L'MSwab™ ne peut pas être utilisé comme milieu d'enrichissement, de sélection ou différentiel.
4. Le milieu de culture MSwab™ ne contient pas d'antibiotiques. Les échantillons patient pouvant contenir une charge élevée en contaminants bactériens pourraient demander l'ajout d'antibiotiques au milieu de conservation et culture des cellules.
5. Les tests de performance de Copan MSwab™ ont été effectués en utilisant des souches de laboratoire appliquées sur un écouvillon en suivant les protocoles de test décrits dans les Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A Approved Standard (9). Les tests de performance n'ont pas été effectués en utilisant des échantillons humains.
6. Les tests de performance de Copan MSwab™ ont été effectués en utilisant les écouvillons floqués Copan.

MISES EN GARDE

1. Pour usage diagnostic in vitro.
2. Ne pas restériliser les écouvillons inutilisés avant l'usage.
3. ② Il s'agit d'un produit jetable ; le réutiliser peut être cause d'infections et/ou de résultats non fiables.
4. Ne pas ré-emballer.
5. Ne pas utiliser pour des applications différentes de celles établies.
6. L'utilisation du produit avec un kit di diagnostic rapide ou avec des instruments diagnostiques doit être validé au préalable par l'utilisateur.
7. Ne pas utiliser si l'on remarque des signes d'endommagement évidents (par ex. pointe ou tige de l'écouvillon brisés).
8. Ne pas forcer ou trop appuyer pendant le prélèvement des échantillons sur le patient, il y a le risque de briser la tige de l'écouvillon.
9. Ne pas utiliser la même éprouvette pour plus d'un patient. Cela a pour conséquence des diagnostics erronés ou de mauvaise qualité.
10. Contrôler si le bouchon à vis MSwab™ est bien fermé avant de transporter l'échantillon.
11. Éliminer les réactifs non utilisés, les déchets et les échantillons conformément aux normes locales en vigueur.
12. Éviter tout contact du milieu MSwab™ avec la peau et les muqueuses. En cas de contact accidentel, rincer immédiatement avec beaucoup d'eau.
13. Ne pas ingérer le milieu de transport.
14. Suivre les instructions très attentivement. Le producteur décline toute responsabilité dérivant de l'utilisation de la part de personnes non qualifiées ou non autorisées.
15. La manipulation du produit doit être effectuée exclusivement par du personnel ayant reçu une formation.
16. Il faut toujours présumer que tous les échantillons contiennent des microorganismes infectés, il est donc nécessaire de faire très attention. Après l'uti lisation éliminer les écouvillons et les éprouvettes conformément à la pratique de laboratoire consacrée aux déchets infectés. Respecter le niveau de biosécurité 2 fixé par le CDC (31, 32, 33, 34).
17. Ne pas utiliser le milieu de transport MSwab™ pour humidifier l'applicateur avant le prélèvement, ou pour le rinçage ou le dosage sur les sites de prélèvement.

RÉSULTATS
Les résultats obtenus dépendront principalement du prélèvement correct et approprié des échantillons, ainsi que de la rapidité du transport et du traitement de l'échantillon en laboratoire.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES

Récupération des bactéries
Les procédures d'analyse utilisées pour la détermination des performances relatives à la vitalité bactérienne se basent sur les méthodes de contrôle qualité décrites dans le texte Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A (9).

Le système MSwab™ est destiné uniquement au prélèvement des bactéries aérobies et anaérobies facultatives à Gram positif et de HSV 1 et HSV, ce qui fait que ses applications sur le champ sont plus limitées que pour d'autres dispositifs. Pour cette raison les études de récupération de bactéries ont été effectuées dans les conditions de transport et conservation simulées telles que décrites et définies dans CLSI M40-A, Quality Control of Microbiological Transport Systems : Approved Standard et qui comprennent les souches de bactéries aérobies et anaérobies facultatives à Gram positif du Groupe 1 du paragraphe 7.11.1 du document CLSI M40-A, en particulier :

Streptococcus pyogenes	ATCC® 19615
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 6305
Pseudomonas aeruginosa	ATCC® BAA-427

En plus de cela, Copan a inclus le test d'autres microorganismes aérobies et anaérobies facultatifs Gram positifs d'une certaine importance clinique non demandés per CLSI M40-A.
Les souches bactériennes spécifiques utilisées dans ces études sont énumérées ci-après :

Enterococcus faecalis	ATCC® 29212
Staphylococcus epidermidis	ATCC® 12228
Staphylococcus aureus	ATCC® 29213
Streptococcus agalactiae (Group B Strep)	ATCC® 13813
Kocuria rhizophila	ATCC® 9341
Listeria monocytogenes	ATCC® 19114
Bacillus cereus	ATCC® 10876
Staphylococcus aureus (résistant à la méticilline)	ATCC® 43300
Staphylococcus aureus	ATCC® 6538
Staphylococcus aureus (résistant à la méticilline)	ATCC® 700698
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 49136

Toutes les cultures bactériennes étaient de type ATCC (American Type Culture Collection) et avaient été obtenues par la voie via commerciale.

La sélection de ces organismes reflète également ces bactéries aérobies et anaérobies facultatives à Gram positif que l'on trouve normalement sur les échantillons prélevés et analysés dans un laboratoire typique de microbiologie clinique.

Les études sur la vitalité bactérienne ont été effectuées sur le Copan MSwab™ avec deux gammes différentes de température, 4 – 8° C et 20 – 25° C, correspondant respectivement à la température de réfrigération et à la température ambiante. Les écouvillons qui accompagnaient chaque système de transport avaient été inoculés en triple avec 100µl de concentrations spécifiques de suspension d'organismes. Les écouvillons ont donc été placés dans les éprouvettes respectives avec milieu de transport, et ils y sont restés pendant 0 heures, 24 heures et 48 heures. Aux intervalles de temps appropriés, chaque écouvillon avait été traité sur la base de la méthode d'élution de l'écouvillon ou du Roll-Plate.

Des études supplémentaires sur la vitalité bactérienne de Staphylococcus aureus, ATCC 29213 et ATCC 6538, et de Staphylococcus aureus (résistant à la méticill-ine) ATCC 43300 et ATCC 700698 ont été effectuées sur le Copan MSwab™ sur deux gammes de température différentes, 4 – 8° C et 20 – 25° C, correspondant respectivement à la température de réfrigération et à la température ambiante.
Les écouvillons qui accompagnaient chaque système de transport avaient été inoculés en triple avec 100µl de concentrations spécifiques de suspension d'organi-smes.
Les écouvillons ont donc été placés dans les éprouvettes respectives avec milieu de transport et :
Pour les études effectuées à 4 – 8° C, les éprouvettes MSwab™ inoculées avaient été gardées dans cet état pour 0 heures, 10 jours et 14 jours. Aux intervalles de temps appropriés, chaque MSwab™ avait été traité sur la base de la méthode du Roll-Plate.
Pour les études effectuées à 20 – 25° C, les éprouvettes MSwab™ inoculées avaient été gardées dans cet état pour 0 heures et 72 heures. Aux intervalles de temps

appropriés, chaque MSwab™ avait été traité sur la base de la méthode du Roll-Plate.

Les études sur la prolifération bactérienne ont été effectuées sur le Copan MSwab™ à 4 – 8° C, correspondant à la température de réfrigération. Les écouvillons qui accompagnaient chaque système de transport avaient été inoculés en triple avec 100µl de concentrations spécifiques de suspension d'organismes. Les écouvillons avaient donc été placés dans les éprouvettes respectives avec milieu de transport, et ils y sont restés pendant 0 heure et 48 heures. Aux intervalles de temps appropriés, chaque écouvillon a été traité sur la base de la méthode du Roll-Plate.
Les études sur la prolifération bactérienne ont été effectués avec le Pseudomonas aeruginosa.

Les études sur la vitalité virale ont été effectuées à l'aide de HSV 1 et HSV 2. Les écouvillons qui accompagnaient chaque système de transport avaient été inoculés en triple avec 100µl de concentrations spécifiques de suspension d'organismes. Les écouvillons avaient donc été placés dans les éprouvettes respectives avec milieu de transport, et ils y avaient été gardés pendant 0, 24 et 48 heures aussi bien à 4° C qu'à température ambiante (20-25° C). Aux intervalles temporels appropriés, chaque écouvillon a été vortexé, sorti de son éprouvette avec milieu de transport et une quantité de cette suspension correspondant à 200µl a été inoculée dans des shell vials. Toutes les cultures ont été traitées avec des techniques de culture standard en laboratoire et examinées après une période d'incubation spécifique. La vitalité des organismes a été déterminée en comptant les foyers fluorescents.

Les organismes suivants ont été soumis à l'évaluation :
Herpes Simplex Virus Type 1 (HSV 1) ATCC VR-539
Herpes Simplex Virus Type 2 (HSV 2) ATCC VR-734.

Conformément au Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A, la performance de la vitalité est mesurée pour chaque organisme soumis au test au point 48 heures et comparé avec le critère d'acceptation.

Dans les études de performance de la vitalité aussi bien en Roll-Plate qu'en Dilution de l'écouvillon, le Système Copan MSwab™ a été en mesure de conserver une récupération acceptable de tous les organismes évalués aussi bien avec réfrigération (4 – 8º C) qu'à température ambiante (20 – 25º C). La récupération acceptable pour la Méthode Roll-Plate est définie comme ≥5 UFC après le temps de conservation spécifié par la dilution spécifique donnant lieu au comptage dans la boîte au temps zéro le plus près possible de 300 UFC. La récupération acceptable pour la Méthode d'élution de l'écouvillon est définie comme un déclin ne dépassant pas 3 log10 (1 x 10^3 +/- 10%) des UFC entre le moment zéro du comptage des UFC et les UFC des écouvillons après le temps de conservation spécifié.

D'autres points temporaux ont été tests pour Staphylococcus aureus, ATCC 29213 e ATCC 6538, et pour Staphylococcus aureus (résistant à la méticilline) ATCC 43300 et ATCC 700698.
Dans les études de performance de la vitalité en Roll-Plate, le Système Copan MSwab™ a été en mesure de conserver une récupération acceptable de tous les organismes évalués aussi bien avec réfrigération (4 – 8º C) pendant 14 jours qu'à température ambiante (20 – 25º C) pendant 72 heures. La récupération acceptable pour la Méthode Roll-Plate est définie comme ≥5 UFC après le temps de conservation spécifié par la dilution spécifique donnant lieu au comptage dans la boîte au temps zéro le plus près possible de 300 UFC.

Les études de performance de la vitalité comprennent également une évaluation de la prolifération bactérienne à température réfrigérée (4 – 8° C). Pour la Méthode d'élution de l'écouvillon, on a effectué une évaluation de la prolifération sur toutes les espèces bactériennes testées après 48 heures de conservation. L'évaluation de la prolifération avec la Méthode d'élution de l'écouvillon est défini en tant qu'augmentation supérieure à 1 log10 entre le temps zéro du comptage des UFC et le temps de conservation. Pour la Méthode Roll-Plate, l'évaluation de la prolifération est effectuée avec une analyse séparée où les écouvillons sont dosés avec 100µl contenant 10^2 UFC de culture de Pseudomonas aeruginosa. La prolifération dans ces conditions est définie en tant qu'augmentation supérieure à 1 log10 des UFC entre le temps zéro du comptage UFC et le temps de conservation de 48 heures.
Le Système Copan MSwab™ n'a montré aucune prolifération sur la base des critères d'acceptation décrits dans le Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A.

Le Système Copan MSwab™ a été en mesure de conserver la vitalité des organismes suivants pendant au moins 48 heures aussi bien à température ambiante (20 – 25º C) qu'avec réfrigération (2 – 8º C) aux conditions de test décrites ci-dessus : Virus Herpes Simplex Type 1, Virus Herpes Simplex Type 2.

Conservation d'acides nucléiques

Les échantillons prélevés à l'aide de MSwab™ à analyser avec des techniques d'amplification d'acides nucléiques doivent être traités dans les 14 jours, si conservés à température ambiante (20-25°C), dans les 21 jours si conservés à 4°C et dans les 6 mois si conservés à -20°C.
Des tests de performance avec Copan MSwab™ ont été menés en utilisant des suspensions de souches de laboratoire déposées sur l'écouvillon FLOQSwab associé au milieu. Les souches testées comprennent : B. pertussis ATCC 8467, S. aureus (résistant à la méticilline) ATCC 43300, E. coli O157-H7 ATCC 700728, S. tiphimurium ATCC 14028, C. difficile ATCC 9689, Virus grippal de type AATCC VR-822, Virus grippal de type BATCC VR 786, Neisseria gonorrhoeae ATCC 43069 et Chlamydia trachomatis ATCC VR880. Les tests de performance n'ont pas été effectués en utilisant des échantillons humains ou des matrices d'origine humaine.

Les résultats obtenus dépendent de l'efficacité du prélèvement des échantillons, tout comme du transport et traitement en laboratoire à temps utile.

Sistema de recolección, conservación y transporte «Copan MSwab™» para aplicaciones moleculares y cultivo - Prospecto y Guía del Usuario

Véase el glosario de los símbolos al final del prospecto

UTILIZACIONES PREVISTAS

El sistema de recolección, transporte y conservación MSwab™ es utilizado para la recolección y el transporte de las muestras clínicas desde el sitio en que se efectúan las tomas hasta el laboratorio de análisis. No más llegar, las muestras MSwab™ pueden ser analizadas mediante procedimientos clínicos estándar para:

- el cultivo bacteriano de organismos Gram positivas aerobios y anaerobios facultativos.
- el cultivo de virus HSV 1 y HSV 2.
- la investigación de ácidos nucleicos de bacterias y virus.

COMPENDIO Y PRINCIPIOS

Uno de los procedimientos rutinarios para el diagnóstico de las infecciones bacterianas implica la recolección y el transporte cómodo y seguro de los hisopos. Eso es posible obtenerlo mediante la utilización de Copan MSwab™ que es un sistema de recolección, transporte y conservación. Copan MSwab™ incluye un medio de transporte y conservación estudiado para mantener la viabilidad de las bacterias Gram positivas aerobias y anaerobias facultativas, HSV 1 y HSV 2 durante el transporte hasta el laboratorio de análisis.
Copan MSwab™ almacena los ácidos nucleicos de agentes patógenos por identificar mediante técnicas de amplificación molecular (NAAT).

El sistema de recolección, transporte y conservación Copan MSwab™ es surtido en tres formatos distintos: a) Formato kit de recolección.
Cada kit de recolección está constituido por un paquete que contiene un tubo de fondo cónico, con tapón de rosca, con 1 ml de medio de transporte y conservación MSwab™, más una bolsita de plástico estéril de desprendimiento con un hisopo FLOQSwab™ para recolección de muestras que cuenta con un extremo con textura de cepillo de nylon.
b) Formato con sólo un tubo. Un tubo de fondo cónico, con tapón de rosca, que contiene 1 ml o 2 ml de medio de transporte y conservación MSwab™.
c) Formato kit de recolección con hisopo de limpieza. Cada kit de recolección cuenta con un empaque que contiene un tubo de fondo cónico, con tapón de rosca con 2 ml de medio de transporte y conservación MSwab™ en su interior, más un sobre estéril de desprendimiento con un hisopo FLOQSwab™ para la recolección de muestras que cuenta con un extremo con textura de cepillo de nylon, y un sobre estéril de desprendimiento con un hisopo de limpieza de punta de fibra más ancha, envuelta, para remover la mucosidad vaginal excedente.

Tras haber efectuado la recolección con el hisopo, el mismo se debe introducir de inmediato en su apropiado tubo MSwab™ para el transporte. Las muestras recolectadas mediante el sistema MSwab™ por examinar, con técnicas de cultivo bacterianas o virus MSwab™, deben de ser transportadas directamente al laboratorio, preferentemente sin sobrepasar las 2 horas desde la toma (1,2,7) con el objetivo de mantener la viabilidad óptima de los microorganismos. Por si se prevén demoras en la entrega o en los análisis por efectuar, las muestras deben de ser refrigeradas a 4 – 8º C o conservadas a temperatura ambiente (20 – 25° C) y analizadas dentro de las 48 horas. Las investigaciones sobre la viabilidad bacteriana del Staphylococcus aureus, ATCC 29213 y ATCC 6538, y de Staphylococcus aureus (resistente a la meticilina) ATCC 43300 y ATCC 700698 demuestran que la viabilidad de los microorganismos probados permanece hasta los 14 días en ambiente refrigerado (4 – 8° C) o por 72 horas a temperatura ambiente (20 – 25° C). Determinadas investigaciones científicas independientes sobre los sistemas de transporte de los hisopos demuestran que para algunas bacterias la viabilidad es mayor si son sometidos a refrigeración en comparación con los que permanecen en temperatura ambiente (12 – 21). Si las muestras virales deben de congelarse es preciso hacerlo a – 70°C.
Las muestras recogidas mediante el sistema MSwab™, para la detección de ácidos nucleicos bacterianos o virales deben de ser analizadas dentro de los 14 días, si conservadas a temperatura ambiente (20-25°C), dentro de 21 días conservadas a 4°C, y dentro de los 6 meses por si se conservaran a -20°C.

REACTIVOS

Formulación del medio de transporte MSwab™
TRIS HCl
EDTA
TRIS Base
Dimetilsulfóxido (DMSO)
Albúmina de suero bovino
Agua destilada

PRECAUCIONES

1. Este producto ha sido concebido exclusivamente para uso de diagnóstico en vitro.
2. Tomar todo tipo de precauciones en cuanto a riesgos biológicos y a las técnicas de asepsia aprobadas. Debe de ser utilizado solamente por personal oportunamente formado y capacitado.
3. Todas las muestras y el material utilizado para procesarlas deben de considerarse potencialmente infecciosas y por tanto deben de manipularse con extremo cuidado para prevenir infecciones al personal del laboratorio. Después de cada uso esterilizar todos lo desechos de riesgo biológico inclusive las muestras, los recipientes y los medios. Observar con esmero todas las indicaciones sobre el Nivel 2 de bioseguridad expedidas por CDC (31, 32, 33, 34).
4. Toda instrucción debe de ser leída y cuidadosamente observada.

CONSERVACIÓN

El producto está listo para ser utilizado sin necesidad de preparaciones adicionales y debe de ser conservado en el recipiente original, a 5 – 25° C hasta cuando se utilizará. No recalentar. No incubar ni congelar previamente. La conservación incorrecta ocasionará en consecuencia, la pérdida de eficacia. No usar después de la fecha de caducidad claramente imprimida, bien en la parte exterior de cada contenedor, bien sobre cada unidad de recolección como también en la etiqueta del tubo de transporte de la muestra.

DETERIORO DEL PRODUCTO

El sistema Copan MSwab™ no debe utilizarse si: (1) subsisten evidencias de daño o contaminación del producto; (2) subsisten evidencias de escapes; (3) se ha vencido la fecha de caducidad; (4) el paquete de envoltura del hisopo está abierto; (5) subsisten evidencias de deterioro.

RECOLECCIÓN, CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

Las muestras tomadas para los análisis microbiológicos que prevén el aislamiento de bacterias o de virus deben de ser tomadas y manipuladas observando esmeradamente las directrices y los manuales publicados (7, 8, 4).

Con el propósito de mantener la viabilidad óptima de los microorganismos y de la integridad de los ácidos nucleicos, transportar las muestras recogidas con el sistema MSwab™ directamente al laboratorio de análisis, preferentemente dentro de las 2 horas después la toma (1, 2, 7). Por si se prevén demoras en la entrega o en

los análisis por efectuar, las muestras deben de ser refrigeradas a 4 – 8º C o conservadas a temperatura ambiente (20 – 25° C) y analizadas dentro de las 48 horas. Las investigaciones sobre la viabilidad bacteriana del Staphylococcus aureus, ATCC 29213 y ATCC 6538, y de Staphylococcus aureus (resistente a la meticilina) ATCC 43300 y ATCC 700698 demuestran que la viabilidad de los microorganismos probados permanece hasta los 14 días en ambiente refrigerado (4 – 8° C) o por 72 horas a temperatura ambiente (20 – 25° C).Si las muestras virales deben de congelarse deben establecerse a -70°C.
Las muestras recogidas utilizando MSwab™ para ser analizadas mediante NAAT deben de ser analizadas dentro de los 14 días, si conservadas a temperatura ambiente (20-25°C), dentro de 21 días conservadas a + 4°C, y dentro de los 6 meses por si se conservaran a -20°C.

Los requisitos peculiares de expedición y manipulación de las muestras deben de ajustarse cabalmente a las normas locales y del país (34, 35, 36, 37). También el envío de las muestras a las Instituciones Médicas debe de ajustarse estrictamente a las normas de dichas Instituciones. Todas las muestras deben de ser sometidas a análisis no más llegar al laboratorio.

MATERIAL PROPORCIONADO
El paquete en venta contiene cincuenta 50 unidades MSwab™ de recolección y una caja contiene 6 x 50 unidades.

El sistema de recolección, transporte y conservación Copan MSwab™ es surtido en tres formatos distintos: a) Formato kit de recolección:
Cada kit de recolección está constituido por un paquete con un tubo de fondo cónico en su interior, con tapón de rosca, que contiene 1 ml de medio de transporte y conservación MSwab™, más una bolsita de plástico estéril de desprendimiento con un hisopo FLOQSwab™ para recolección de muestras que cuenta con un extremo recubierto de cerdas de nylon;
b) Formato con sólo un tubo: Un tubo de fondo cónico, con tapón de rosca, que contiene 1 ml o 2 ml de medio de transporte y conservación MSwab™.
c) Formato kit de recolección con hisopo de limpieza. Cada kit de recolección cuenta con un empaque que contiene un tubo de fondo cónico, con tapón de rosca con 2 ml de medio de transporte y conservación MSwab™ en su interior, más un sobre estéril de desprendimiento con un hisopo FLOQSwab™ para la recolección de muestras que cuenta con un extremo con textura de cepillo de nylon, y un sobre estéril de desprendimiento con un hisopo de limpieza de punta de fibra más ancha, envuelta, para remover la mucosidad vaginal excedente

Existen dos tipos de hisopos para recolección de muestras: un hisopo de muestreo, de tamaño estándar que cuenta con un extremo recubierto de cerdas de nylon para garganta, vagina, heridas, recto y heces; un hisopo pernasal con punta cubierta de cerdas de nylon para tomas de nasofaringe. Todos los hisopos floqueados proporcionados con MSwab™ poseen un punto de ruptura en la varilla del hisopo, marcado por una línea de color. Después de cada toma de muestras del paciente, el punto de ruptura premoldeado facilita la ruptura intencional de la varilla del aplicador dentro del tubo con el medio de transporte MSwab™.
La peculiar hechura interior de los tapones de los tubos con forma de embudo, atrapa y sujeta la varilla del hisopo después de haber efectuado la ruptura. Enrollando el tapón de rosca en el tubo, el extremo de la varilla efectivamente se desplaza en el hueco del tapón. Al abrir el tubo en el laboratorio de análisis, la varilla del hisopo queda firmemente sujeta al tapón y por lo tanto el operador puede sacar con facilidad el hisopo de muestreo y ejecutar los análisis microbiológicos asiendo el tapón como un mango.
Empero el susodicho tapón con las características de sujeción de la varilla, no está previsto para los hisopos pernasales (6E013N), los cuales, por ser demasiado flexibles, no pueden quedar firmemente sujetados en el interior del hueco.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS
Son elementos aptos al aislamiento y al cultivo de bacterias aerobias y anaerobias facultativas. Entre dichos elementos citamos placas o probetas para cultivo y sistemas de incubación. Para los protocolos recomendados relacionados con las técnicas de cultivo e identificación de bacterias aerobias y anaerobias facultativas de hisopos para muestras clínicas, aconsejamos al Usuario consultar los manuales del laboratorio (2, 4).
Materiales aptos al aislamiento, a la diferenciación y al cultivo de virus. Estos materiales incluyen líneas celulares para cultivo de tejido, medios de cultivo para tejidos, sistemas de incubación y aparatos para la lectura. Consultar oportunamente los protocolos recomendados para el aislamiento y la identificación de los virus (1, 7).

Materiales aptos para la extracción y la amplificación de los ácidos nucleicos para pruebas de biología molecular. Bloque calefactor y centrifugadora para métodos de extracción rápida. Consultar los manuales de los laboratorio referentes a la identificación y amplificación de los ácidos nucleicos en muestras clínicas de hisopado.

Para el caso de métodos de extracción rápida, aconsejamos de transferir la oportuna alícuota de MSwab™ (consultar el párrafo “Tratamiento de las muestras MSwab™ para los análisis moleculares de laboratorio, Método B”) en tubos o probetas Copan con esferas de vidrio (código disponible por separado 2E013S050).

INSTRUCCIONES PARA EL USO
El Sistema de recolección, conservación y transporte Copan MSwab™ está disponible en las configuraciones del producto a continuación detalladas en la siguiente tabla:

Tabla 1

N° de catalogue	Description Produits Copan MSwab™	Contenu emballages
6E012N	Emballage à usage unique pour prélèvement d’échantillons contenant : - Éprouvette de 12x80 mm avec bouchon à vis contenant 1 ml de milieu de transport et conservation MSwab™ - Un tampon FLOQSwab de dimensions standard avec pointe floquée en nylon, stérile et emballé séparément.	50 unités /boîte 6x50 unités/ carton
6E013N	Emballage de prélèvement des échantillons à usage unique contenant : - Éprouvette de 12x80 mm avec bouchon à vis contenant 1 ml de milieu de transport et conservation MSwab™ - Un tampon FLOQSwab nasal avec pointe floquée en nylon, stérile et emballé séparément.	50 unités /boîte 6x50 unités/ carton
6E011N	Éprouvette pour transport et conservation simple : - 1 ml de milieu de transport et conservation MSwab™ dans une éprouvette 12 x 80 mm à fond conique et bouchon à vis	50 unités /boîte 6x50 unités/ carton
6U019N	Éprouvette pour transport et conservation simple : - 2 ml de milieu de transport et conservation MSwab™ dans une éprouvette 12 x 80 mm à fond conique et bouchon à vis	50 unités /boîte 6x50 unités/ carton
6E028N.MER	Emballage à usage unique pour prélèvement d’échantillons contenant : - Éprouvette de 12x80 mm avec bouchon à vis contenant 2 ml de milieu de transport et conservation MSwab™ - Un tampon FLOQSwab de dimensions standard avec pointe floquée en nylon, stérile et emballé séparément. -Un écouvillon en fibre enroulée à pointe large, stérile et emballé séparément.	50 unités /boîte 6x50 unités/ carton

Son disponibles adicionales referencias sobre el producto. Para conseguir actualizaciones visitar nuestro sitio web: www.copanflock.com

Recolección de las muestras

La correcta recolección de muestras del paciente es de fundamental importancia para que tenga éxito el aislamiento y la identificación de los organismos infecciosos. Para obtener instrucciones más detalladas sobre los procedimientos de recolección, consultar los manuales referentes a la materia publicados (7, 2,).

No utilizar el Medio MSwab™ para humedecer o mojar el hisopo previamente a la toma de las muestras biológicas del paciente o para enjuagar o mojar el sitio en que se efectúa la toma.

Para los códigos MSwab™ 6E012N y 6E013N:

1. Abrir el paquete del kit y sacar el tubo con el medio de transporte y la bolsita con el hisopo estéril (ver la Figura 1).
2. Sacar el hisopo de su bolsita de desprendimiento y utilizarlo para recolectar la muestra clínica. El operador debe tocar el hisopo sólo por encima del punto de ruptura intencional marcado de color, tal como enseña la gráfica en la Figura 1, que se encuentra al otro extremo de la punta con cerdas de nylon floqueada. El operador, durante la manipulación del hisopo, tampoco debe tocar nunca la zona por debajo de la línea de ruptura premoldeada (la zona que se encuentra por debajo de la línea marcada de color hasta la punta de nylon del hisopo) para no contaminar la varilla del hisopo y, por consecuencia, el cultivo.
3. Efectuar la toma al paciente.
4. Desenrollar el tapón del tubo MSwab™ teniendo mucho cuidado que el medio de transporte no se salga.
5. Introducir el hisopo en el tubo hasta hacer coincidir el punto de fractura intencional marcado de color, con la boca del tubo.
6. Doblar y quebrar el hisopo en correspondencia del susodicho punto de fractura coloreado según mostramos en la Figura 1, apartando oportunamente el tubo de la cara.
7. Eliminar el mango quebrado del hisopo tirándolo en un recipiente autorizado para la eliminación de desechos médicos peligrosos.
8. Volver a enrollar el tapón en el tubo y cerrar bien.
9. Apuntar los datos de identificación del paciente en la etiqueta del tubo o aplicar la etiqueta de identificación del paciente. Enviar la muestra al laboratorio de análisis.

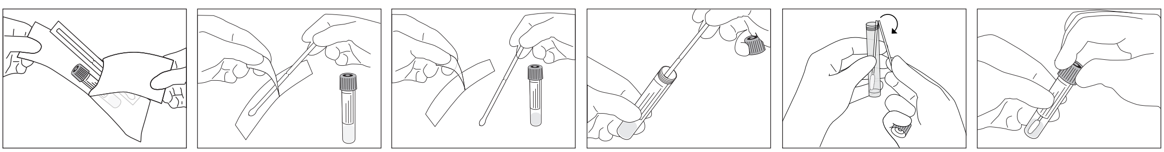
Para el código MSwab™ 6E028N.MER:

1. Abrir el kit, sacar el tubo con el medio de transporte y los dos sobres o bolsitas del interior, una con el hisopo estéril y la otra con el hisopo de limpieza “Cleaning Swab” de punta ancha.
2. El uso de la torunda de limpieza está recomendado sólo en caso de recogida de muestras endocervicales. La torunda de limpieza (torunda con punta ancha en fibra enrollada) –ver Figura 1–, se utilizará exclusivamente para extraer el exceso de moco presente en el orificio cervicouterino y la mucosa circundante. **Después del uso, desechar la torunda.**
   En caso de recogida de otras tipologías de muestras (no endocervicales), la torunda ancha de limpieza no se utilizará y deberá desecharse.
3. En cuanto a las tomas de muestras clínicas, por favor, seguir las instrucciones señaladas para los códigos 6E012N y 6E013N desde el punto 2 en adelante.

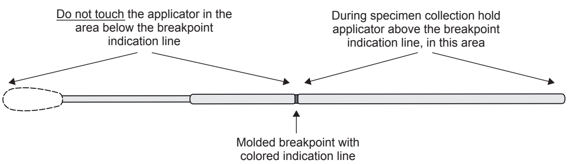
Para los códigos MSwab™ 6E011N y 6U019N:

1. Tras haber efectuado la toma de muestras al paciente mediante hisopado, desenrollar y sacarle el tapón al tubo MSwab™ sin hacer salir el medio de transporte.
2. Introducir el hisopo en el tubo.
3. Si el hisopo tiene un punto de fractura, doblar y quebrar el hisopo en correspondencia del susodicho punto de fractura, apartando oportunamente el tubo de la cara.
4. Volver a enrollar el tapón en el tubo y cerrar bien.
5. Apuntar los datos de identificación del paciente en la etiqueta del tubo o aplicar la etiqueta de identificación del paciente. Enviar la muestra al laboratorio de análisis.

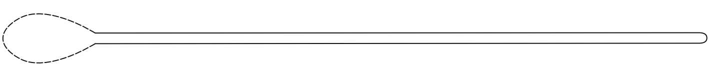
Fig 1. Hisopo para recolección con la línea del punto de ruptura intencional marcada para ser manipulada



COLLECTION SWAB



CLEANING SWAB



El operador debe tocar solamente la parte de la varilla del hisopo anterior a la línea en el punto de ruptura intencional premoldeado, como enseña la gráfica de la Fig. 1. Después de haber recogido la muestra del paciente con el hisopo, quebrar la varilla del hisopo justo en la línea marcada de color, a la altura del punto de ruptura intencional, dentro del tubo MSwab™ que contiene el medio de transporte MSwab™. A este punto el operador debe desechar la parte de la varilla del hisopo separada, tras la ruptura de la misma, en un recipiente aprobado para desechos médicos peligrosos. El tapón de rosca del tubo se debe entonces cerrar y enrollar firmemente. La operación de enrollado del tapón del tubo empuja el extremo de la varilla del hisopo dentro de un espacio hueco con forma de embudo ubicado en el tapón mismo (ver la Fig. 2). Este espacio hueco premoldeado con forma de embudo atrapa el extremo del varilla del hisopo quebrado y lo sujeta por roce.

Fig 2. Sujeción de la varilla quebrada del hisopo MSwab™, por parte del tapón del tubo



La Función Tapón de Enganche está garantizada solamente usando el Hisopo Floqueado Copan de tamaño estándar.

En el laboratorio de análisis, cuando el tapón MSwab™ es desenrollado y sacado, la varilla del hisopo permanece firmemente conectada al mismo de forma segura. Esta función permite al operador de quitar el hisopo con facilidad y efectuar los varios análisis microbiológicos asiendo el tapón del tubo, que actúa la función de mango, sin siquiera tocar el hisopo.

NOTA SOBRE LA FUNCIÓN DE SUJECIÓN DEL TAPÓN:
El tapón ha sido pensado y desarrollado de modo tal que pueda atrapar y enganchar un Hisopo Floqueado Copan de tamaño estándar en el interior de un tubo, si es utilizado y quebrado de manera correcta. Pero si se utiliza un hisopo pernasal, la función de sujeción no es garantizada.
El hisopo pernasal (6E013N) debe de ser sacado cuidadosamente del tubo apenas antes de proceder con el análisis de la muestra. Esta precaución permite evitar el desprendimiento accidental de la muestra, del tapón.

Procesamiento de las muestras MSwab™ en el laboratorio – Bacteriología

Las muestras MSwab™ deben de ser procesadas con la finalidad de permitir el cultivo bacteriológico con medios de cultivo y técnicas de laboratorio recomendadas, dependiendo del tipo de muestra y de organismo sometido a análisis. En cuanto a los medios de cultivo para aislamiento e identificación de bacterias procedentes de muestras de hisopado clínico, consultar los manuales publicados y observar las directrices acerca de la microbiología (1-6). Los análisis de cultivos de muestras de hisopado para la investigación clínica y la búsqueda de bacterias incluyen la utilización rutinaria de medios de cultivo agar sólido en placas de Petri. El procedimiento de inoculación de muestras MSwab™ sobre agar solido en las placas de Petri, es la siguiente:

Nota: Antes de manipular las muestras clínicas, no olvidar de calzar guantes de látex y vestir todos los demás EPIs de seguridad y protección necesarios. Observar toda indicación facilitada en el Nivel 2 sobre la bioseguridad expedida por CDC (31, 32, 33, 34).

Pasar por Vortex el tubo MSwab™ que contiene la muestra del hisopo por 5 segundos para que se despegue la muestra del extremo de la varilla del hisopo. Disolver uniformemente la muestra del paciente en el medio.

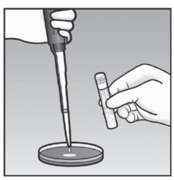
1. Desenrollar el tapón MSwab™ y sacar el hisopo
2. Hacer rodar la punta de la varilla MSwab™ sobre la superficie de un cuadrante de la placa con el medio de cultivo para efectuar la inoculación primaria.
3. Por si fuera necesario, someter a cultivo la muestra del hisopado en otra placa de cultivo, volver a poner la varilla aplicadora MSwab™ por dos segundos en el tubo con el medio de transporte, para que el extremo de la varilla pueda absorber la suspensión del medio de cultivo con la muestra del paciente. Repetir el Paso n° 3.
4. Por si fuera también necesario inocular otras placas de cultivo, volver a poner la varilla aplicadora MSwab™ por dos segundos en el tubo con el medio de transporte, para que el extremo de la varilla pueda absorber la suspensión del medio de cultivo con la muestra del paciente antes de inocular cada placa adicional.

El procedimiento arriba detallado utiliza la varilla aplicadora MSwab™ igual que un asa de inoculado para transferir la suspensión de la muestra del paciente introduciéndola en el medio de transporte hasta la superficie de la placa de cultivo creando la inoculación primaria (ver la Fig. 3).
O de otra manera, el operador puede poner en el Vortex el tubo MSwab™ con el hisopo en su interior, por 5 segundos y luego transferir 100µl de suspensión en cada placa de cultivo mediante una pipeta volumétrica de punta estéril. Para efectuar frotis de inoculado primario de la muestra del paciente en la superficie de la placa, observar los procedimientos estándar del laboratorio (ver la Fig. 4).

Fig 3. Procedimientos de inoculado de las muestras MSwab™ en agar sólido, en placas de Petri.

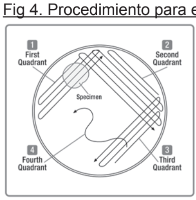


1. Utilización del hisopo para inocular la muestra



2. Utilización de la pipeta y de las puntas estériles para inocular 100µl de muestra. Este procedimiento de inoculado es de preferir si la muestra clínica es analizada también con técnicas NAAT.

Fig 4. Procedimiento para efectuar frotis de muestras MSwab™ en placas de Petri para el aislamiento primario (33)



Efectuar un inoculado primario de muestra MSwab™ en la superficie de una placa de cultivo en agar, en el primer cuadrante.

Utilizar un asa estéril para bacteriología para efectuar el frotis del inoculado primario en la superficie del segundo, tercer y cuarto cuadrante de la placa de cultivo en agar.

Preparación de frotis teñidos Gram de muestras MSwab™

Los análisis de laboratorio de hisopos con muestras clínicas tomadas de determinadas partes del paciente, pueden incluir, rutinariamente, exámenes bajo microscopio de preparaciones teñidas ("frotis directos") mediante utilización de procedimientos de tinción de Gram que pueden proporcionar invalorables informaciones a los médicos que curan a pacientes con enfermedades infecciosas (22). Se han verificado muchos casos en los que la tinción de Gram ha proporcionado gran ayuda a la hora de efectuar un buen diagnóstico (23, 27).
La tinción de Gram puede también contribuir a evaluar la buena calidad de las muestras y contribuir a seleccionar los medios de cultivo, especialmente para los casos de flora mixta.
Los portaobjetos de microscopio con las muestras de pacientes, transportados con los sistemas de transporte Copan MSwab™, pueden ser preparados para los análisis de tinción de Gram, según indicaremos seguidamente, sacando muestras de una alícuota de suspensión del hisopo, pasada por vortex (3,4). Las muestras transportadas en el medio de elución MSwab™ representan una suspensión homogénea en fase líquida. Pueden ser extendidas de manera uniforme para facilitar una lectura clara y sencilla.

Nota: Antes de manipular las muestras clínicas, no olvidar de calzar guantes de látex y vestir todos los demás EPIs de seguridad y protección necesarios. Observar toda recomendación indicada en el Nivel 2 sobre la bioseguridad expedida por CDC (31, 32, 33, 34).

1. Tomar un portaobjeto limpio de microscopio, colocarlo sobre una superficie plana e inscribir un área con una punta de diamante o herramienta similar para poder identificar la ubicación del inoculado de la muestra. Nota: puede utilizarse también un portaobjeto con pocillo de 20 mm. previamente marcado.

2. Poner en el Vortex el tubo MSwab™ que contiene la muestra del hisopo por 5 segundos, para que se despegue la muestra del extremo de la varilla del hisopo y disolver la muestra del paciente en suspensión, uniformemente, en el medio de cultivo.

3. Desenrollar el tapón MSwab™ y, con una pipeta estéril, transferir 1-2 gotas de suspensión de la muestra en la superficie del portaobjetos previamente marcada. Nota: aproximadamente 30 µl constituyen una cantidad de líquido apropiada para un pocillo de aprox. 20 mm de diámetro previamente marcado.
En el caso de muestras espesas o de sangre, se debe prestar mucho cuidado para extender, con una fina capa, la muestra sobre el portaobjetos. Las bacterias son de difícil detección si la muestra presenta muchos glóbulos rojos e impurezas residuales.

4. Esperar que la muestra se seque en el portaobjetos, exponiéndole al aire libre o ante un caloventor eléctrico o incubadora para portaobjetos cuidando de no sobrepasar la temperatura de 42°C.

5. Fijar el frotis con metanol. Recomendamos el metanol puesto que previene la lisis de los glóbulos rojos y evita que todas las células huésped se dañen y da como resultado un fondo más limpio (3,4,22)

6. Para efectuar la tinción de Gram observar esmeradamente toda indicación y consultar los manuales de referencia del laboratorio. Si se usan reactivos para la tinción de Gram comerciales, es importante respetar las instrucciones facilitadas en el prospecto de la casa productora y observar todos los procedimientos en cuanto a las pruebas sobre las performances.

Para obtener adicionales informaciones sobre la preparación de portaobjetos de muestras para análisis de microscopio y para obtener información sobre los procedimientos para la tinción de Gram y para la interpretación y el informe sobre los análisis, consultar los manuales específicos sobre el laboratorio ya publicados (1-5,22-27).

Procesamiento de muestras MSwab™ en el laboratorio – Virología

La supervivencia de los HSV 1 y HSV 2 depende de muchos factores, inclusive del tipo de microorganismos y de su concentración, de eventuales demoras en el transporte y de la temperatura de conservación. Con el propósito de mantener la viabilidad óptima, las muestras deben de ser transportadas directamente al laboratorio, preferentemente sin sobrepasar las 2 horas desde la toma (1, 2, 7, 29). Por si se preveen demoras en la entrega o en los análisis inminentes por efectuar, las muestras recolectadas con el Sistema de Recolección, Transporte y Conservación MSwab™ deben de ser refrigeradas a 4 – 8° C o conservadas a temperatura ambiente (20 – 25° C) y procesadas dentro de las 48 horas. Congelar las muestras a – 70°C si es necesario congelarlas.

En el transcurso de los ensayos y simulaciones de transporte y conservación efectuadas, el Sistema Copan MSwab™ cumplió con los requisitos para mantener la viabilidad de los HSV 1 y de HSV 2 en las condiciones de temperatura refrigerada (4-8° C) y a temperatura ambiente (20-25° C) hasta las 48 horas. En cuanto a los estudios sobre las performances efectuados por Copan y por otras publicaciones científicas independientes, se ha demostrado que la viabilidad de algunos microorganismos es mucho mayor a temperaturas más bajas en comparación con la temperatura ambiente (12 – 21, 29).

Las muestras MSwab™ deben de ser procesadas para el cultivo virológico utilizando las líneas celulares y las técnicas de laboratorio recomendadas que a su vez dependen del tipo de muestra y del microorganismo sometido a examen. Para los shell vials y las técnicas recomendadas para el aislamiento y la identificación de HSV 1 y HSV 2 de las muestras de hisopado clínico, consultar los manuales referentes a virología publicados (1 – 6, 29, 30).

Los análisis de cultivos de de muestras en hisopado para detectar la presencia de HSV 1 y HSV 2 incluye la utilización rutinaria de cultivos celulares en shell vials. A continuación describimos el procedimiento de inoculado de las muestras MSwab™ en los shell vials.

1. Nota: Antes de manipular las muestras clínicas, calzar guantes de látex y usar todos los EPIs de seguridad para la protección necesarios. Cumplir también con todas las indicaciones proporcionadas en BSL 2
2. Pasar por Vortex el tubo MSwab™ que contiene la muestra en el hisopo por 5 segundos para que se despegue la muestra del extremo de la varilla del hisopo y luego disolver uniformemente en la suspensión la muestra del paciente en el medio.
3. Desenrollar el tapón MSwab™ y sacar la varilla aplicadora del hisopo.
4. Transferir la cantidad de 200 µl de la suspensión en el shell vial y proceder siguiendo los procedimientos del laboratorio.

NOTA: Para las muestras del paciente que podrían contener un alto grado de contaminación bacteriana, puede que se requiera añadir antibióticos en el medio de conservación y en el cultivo de las células.

5. Proceder según las técnicas apropiadas para la detección de virus.

Procesamiento de las muestras MSwab™ para análisis moleculares de laboratorio

Las muestras recibidas en el laboratorio para la detección de los ácidos nucleicos deben procesarse de inmediato no más llegar al laboratorio. En caso de demoras, ajustarse a las condiciones de almacenamiento adecuado a las muestras.

NOTA: Antes de manipular las muestras clínicas, calzar guantes de látex y usar todos los EPIs de seguridad necesarios para la protección. Ajustarse también a todos los niveles de bioseguridad (BSL) 2, establecidos por CDC (31,32,33 y 34). Antes de utilizar los métodos moleculares tomar toda precaución necesaria apta a evitar todo riesgo de contaminación. La separación espacial de las áreas de trabajo y el flujo de trabajo unidireccional son imprescindibles para prevenir la contaminación de amplicón (35).

La formulación del medio MSwab™ ha sido desarrollada para ser compatible con PCR Master Mix; eso hace que MSwab™ resulte idóneo para aplicaciones directas de amplificaciones de ácidos nucleicos sin necesidad de extracciones estándar y purificación.
Dos métodos distintos (A y B) pueden ser aplicados para el procesamiento de las muestras MSwab™:

A) Método de extracción estándar

1. Pasar por Vortex el tubo MSwab™ por 10 segundos, desenrollar el tapón y, asiéndolo entre los dedos pulgar e índice, darle vuelta para permitir que salga la mayor parte del fluido de la punta.

NOTA: El tapón con su peculiar característica de sujeción de la varilla no se ha previsto en cambio para los hisopos pernasales (6E013N) puesto que, por ser tan flexibles, no pueden permanecer firmemente enganchados en el interior del hueco. En este caso, después de haber extraído el líquido de la punta, extraer la varilla con el auxilio de unas pinzas.

2. Eliminar el hisopo y transferir apropiada cantidad de muestra (por ej.: 200 ul) en un tubo de extracción según los procedimientos de laboratorio acostumbrados.
3. Continuar según los procedimientos de los kits utilizados sobre extracción y amplificación.

El sistema MSwab™ ha sido validado por medio de los siguientes métodos de extracción: membrana de gel-sílice (Qiagen, Macherey & Nagel), esferas magnéticas (EasyMAG,Qiasymphony,Magnapure).Otros métodos de extracción son aplicables después de la validación.

B) Método de extracción rápida

Para la investigación de las contaminaciones virales aconsejamos efectuar un tratamiento de choque térmico para lisar las muestras.

1. Pasar por Vortex el tubo original de la muestra MSwab™ por 10 segundos.

NOTA: El tapón con su típica característica de sujeción de la varilla no ha sido previsto para los hisopos pernasales (6E013N) los cuales por ser demasiado flexibles no pueden quedar enganchados dentro de su cavidad.

2. Utilizando una micro pipeta, transferir 200 ul de la muestra MSwab™ en un tubo estéril que contenga esferas de vidrio (2E013S50: tubo Copan con esferas de vidrio (disponibles por separado) y pasar por Vortex por 10 segundos. Guardar la muestra de MSwab™ original para el cultivo o adicionales ensayos.
3. Calentar el micro tubo en un termóstato con temperatura preestablecida de 98°-100°C por:
   - 3 minutos para Virus
   - 10 minutos para Bacterias Gram positivas
   - 5 minutos para Bacterias Gram negativas
4. Enfriar el tubo a temperatura ambiente por 5 minutos.
5. Centrifugar el micro tubo a 10000xg por 2 minutos para dejar sedimentar los restos.
6. Transferir una alícuota de la muestra MSwab™ procesado en la master mix y proceder con la amplificación según los procedimientos del kit de amplificación acostumbrados.

El método de extracción rápida arriba detallado ha sido probado con R-Biopharm RIDA®GENE Real Time PCR kits, Seegene Anyplex FluA/B Typing Real Time detection kit y con Genesig Real Time PCR kits by Primer Design, en comparación con los métodos de extracción rápida. Otros métodos de amplificación PCR se aplican después de validación. Las cepas probadas incluyen las siguientes: B. pertussis (ATCC 8467), S. aureus (resistente a la meticilina) (ATCC 43300), E. coli O157-H7 (ATCC 700728), S. tiphimurium (ATCC 14028), C. difficile (ATCC 9689), Influenzavirus A (ATCC VR-822), Influenzavirus B (ATCC VR 786), Neisseria gonorrhoeae (ATCC 43069) y Chlamydia trachomatis (ATCC VR880). Las pruebas no se han llevado a cabo utilizando matrices de origen humana.

Los logros realizados dependen totalmente de la oportunidad y competitividad de las operaciones de recolección, transporte y análisis de laboratorio.

CONTROL DE CALIDAD

Los hisopos MSwab™ son sometidos a ensayos para garantizar la ausencia de toxicidad para las bacterias. Además se efectúan pruebas para verificar y garantizar que el medio de transporte y los hisopos MSwab™ carezcan de toxicidad para las líneas celulares utilizadas para el cultivo de los HSV 1 y di HSV 2. El medio de transporte MSwab™ ha sido sometido a pruebas en cuanto a la estabilidad del pH y por ausencia de inhibidores mediante técnicas de amplificación directa (9). El MSwab™ fue sometido a las pruebas sobre el control de la calidad con anterioridad a la comercialización del producto en cuanto a su capacidad de mantener la viabilidad de bacterias Gram positivas aerobias y anaerobias facultativas y de los virus HSV en temperatura ambiente (20 – 25° C) por determinados períodos de tiempo. Los procedimientos sobre el control de la calidad de los dispositivos de transporte microbiológico deben de ser efectuados siguiendo con esmero las indicaciones facilitadas sobre testeo, del Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A y otras publicaciones (9). En el caso en que el control de la calidad arrojara resultados aberrantes sería preciso omitir los resultados que se refieran a los pacientes.

RESTRICCIONES

1. En el laboratorio, antes de manipular las muestras clínicas, no olvidar de calzar guantes de látex y vestir todos los demás EPIs de seguridad y protección necesarios. Observar toda recomendación indicada en el Nivel 2 sobre la bioseguridad expedida por CDC (31, 32, 33, 34).
2. Las condiciones, el período de tiempo y la cantidad de muestras recolectadas para el cultivo constituyen variables relevantes en cuanto a la obtención de resultados de cultivo fiables. Seguir las directrices recomendadas en cuanto a la recolección de muestras (7, 8, 4).
3. El MSwab™ ha sido destinado para utilización de medios de recolección y transporte de cultivos de bacterias Gram positivas aerobias y anaerobias facultativas, virus HSV 1 y HSV 2 y para la detección de ácidos nucleicos de bacterias y virus.
   El MSwab™ no puede ser utilizado como medio de enriquecimiento, de selección o diferencial.
4. El medio de cultivo MSwab™ no contiene antibióticos. Las muestras del paciente que pudieran contener altas cargas de contaminantes bacterianas podrían requerir la añadidura de antibióticos al medio de conservación y cultivo de las células.
5. Las pruebas en cuanto a las performances de Copan MSwab™ han sido efectuados utilizando cepas de laboratorio aplicados en hisopos según las directrices acerca de los protocolos de testeo detallados por Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A Approved Standard (9). Las

pruebas sobre las performances no han sido efectuadas con muestras humanas.
6. Las pruebas sobre las performances de Copan MSwab™ han sido efectuadas utilizando hisopos floqueados de Copan.

ADVERTENCIAS

1. Para uso de diagnóstico in vitro.
2. No volver a esterilizar los hisopos inutilizados antes del uso.
3. ⊗ Este producto es estrictamente desechable; su reutilización puede ocasionar riesgos de infecciones y/o resultados inexactos.
4. No reempacar.
5. No efectuar utilización alguna que no fuera lo estrictamente establecido.
6. La utilización del producto, con un kit de diagnóstico rápido o con instrumentos de diagnóstico, debe ser validado previamente por el Usuario.
7. No utilizar el producto si resultan evidencias de daños (por ej.: punta o varilla del hisopo rotos).
8. No forcejear ni apretar demasiado durante la fase de recolección de las muestras de los pacientes, puesto que ello podría ocasionar la ruptura de la varilla del hisopo
9. No utilizar la misma probeta o tubo para distintos pacientes puesto que ello puede ocasionar un diagnóstico incorrecto o inexacto.
10. Cerciorarse de que el tapón rosca del MSwab™ esté cerrado firmemente antes de transportar la muestra.
11. Eliminar los reactivos no utilizados, los desechos y las muestras en cumplimiento de las normas y reglas locales.
12. Evitar contacto del medio MSwab™ con la piel y las membranas mucosas. Por si ello sucediera, enjuagarse con abundante agua.
13. No ingerir el medio de transporte.
14. Observar con esmero toda instrucción sobre el correcto uso. El Productor rehusa toda responsabilidad por eventuales utilizaciones por parte de personal no capacitado o autorizado.
15. La manipulación del producto debe ser efectuada exclusivamente por personal capacitado.
16. Se debe asumir que todas las muestras contienen microorganismos infecciosos, por lo tanto recomendamos prestar la máxima atención. Después de cada utilización eliminar los tubos y los hisopos según costumbre y usos de laboratorio relativos a los desechos peligrosos. Respetar el nivel 2 de bioseguridad establecido por CDC (31, 32, 33, 34).
17. No utilizar el medio de transporte MSwab™ para humedecer el hisopo antes de la recolección de muestras o para enjuagarlo previamente o mojar zonas del cuerpo de la toma.

RESULTADOS
Los resultados obtenidos dependen bien de la forma correcta de recolectar las muestras, bien de la entrega en el tiempo oportuno y rápido procesamiento en el laboratorio.

CARACTERÍSTICA DE LAS PERFORMANCES

Recuperación de bacterias
Los procedimientos de análisis empleados para determinar las performances en cuanto a la viabilidad bacteriana han sido basadas en los métodos de control de la calidad detalladas en el texto de Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A (9).

El sistema MSwab™ ha sido destinado únicamente a la recolección de bacterias Gram positivas aerobias y anaerobias facultativas y de los virus HSV 1 y HSV 2, por lo tanto sus aplicaciones en este campo son de menor alcance de aquellas con otros dispositivos. Por tanto las investigaciones sobre recuperación de bacterias han sido efectuadas en las mismas condiciones de transporte y conservación simuladas detalladas y definidas en CLSI M40-A, Quality Control of Microbiological Transport Systems: Approved Standard y en ellas se han incluido las cepas de bacterias Gram positivas aerobias y anaerobias facultativas del Grupo 1 del párrafo 7.11.1 en el documento CLSIM40-A, especialmente las siguientes:

Streptococcus pyogenes	ATCC® 19615
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 6305
Pseudomonas aeruginosa	ATCC® BAA-427

Además, Copan ha incluido un test sobre otros microorganismos Gram positivos aerobios y anaerobios facultativos, de importancia clínica pero no exigidos por CLSI M40-A.
A continuación detallamos las cepas bacterianas específicas utilizadas en estas investigaciones:

Enterococcus faecalis	ATCC® 29212
Staphylococcus epidermidis	ATCC® 12228
Staphylococcus aureus	ATCC® 29213
Streptococcus agalactiae (Group B Strep)	ATCC® 13813
Kocuria rhizophila	ATCC® 9341
Listeria monocytogenes	ATCC® 19114
Bacillus cereus	ATCC® 10876
Staphylococcus aureus (Methicillin resistant)	ATCC® 43300
Staphylococcus aureus	ATCC® 6538
Staphylococcus aureus (Methicillin resistant)	ATCC® 700698
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 49136

Todos los cultivos bacterianos eran del tipo ATCC (American Type Culture Collection) y se habían obtenido comercialmente.

La selección de dichos organismos refleja también aquellas bacterias Gram positivas aerobias y anaerobias facultativas que suelen encontrarse en las muestras recolectadas y analizadas en cualquier laboratorio de microbiología.

Al someter el Copan MSwab™ a investigaciones y estudios sobre la viabilidad de las bacterias cabe destacar que se efectuaron en dos rangos de temperatura: 4 – 8° C y 20 – 25° C, que corresponden respectivamente a la temperatura de refrigeración y a temperatura ambiente. Los hisopos que acompañaron cada sistema de transporte se inocularon directamente por triplicado con 100 µL de concentraciones específicas de suspensión de organismos. Luego los hisopos habían sido puestos dentro de sus respectivos tubos con el medio de transporte incorporado y se le habían apartado por 0, 24 y 48 horas. En los intervalos de tiempo apropiados se había procesado cada hisopo según el método de Elución del hisopo o del Roll-Plate.

Se ha sometido Copan MSwab™ a pruebas posteriores sobre la viabilidad de las bacterias de Staphylococcus aureus, ATCC 29213 y ATCC 6538, y de Staphylococcus aureus (resistente a la meticilina) ATCC 43300 y ATCC 700698 en las que se efectuaron al Copan MSwab™ en dos rangos de temperatura: 4 – 8° C y 20 – 25° C, que corresponden respectivamente a la temperatura de refrigeración y a temperatura ambiente.
Los hisopos que acompañan cada sistema de transporte se inocularon directamente por triplicado con 100 µL de concentraciones específicas de suspensión de organismos.

Los hisopos luego se han puesto dentro de sus respectivos tubos con el medio de transporte incorporado y:
Según investigaciones efectuadas, a 4 – 8°C, los tubos MSwab™ inoculados fueron mantenidos en dicho estado por 0 horas, 10 días y 14 días. En los intervalos de tiempo apropiados, cada MSwab™ se había procesado según el método del Roll-Plate;
Tras las investigaciones efectuadas a 20 – 25°C los tubos MSwab™ inoculados se han mantenido en dicho estado por 0 y 72 horas. En los intervalos de tiempo apropiados, cada MSwab™ se había procesado según el método del Roll-Plate

Las investigaciones se han llevado a cabo con respecto al Copan MSwab™ sobre el crecimiento excesivo de las bacterias, a la temperatura de 4 – 8° C, que corresponde a la temperatura de refrigeración. Los hisopos que acompañan cada sistema de transporte se inocularon por triplicado con 100 µL de concentraciones específicas de suspensión de organismos.
Los hisopos luego se han puesto dentro de sus respectivos tubos con el medio de transporte incorporado y se le han apartado por 0, y 48 horas. En intervalos de tiempo apropiados, cada hisopo ha sido procesado según el método de Roll-Plate. Las investigaciones sobre crecimiento excesivo de bacterias han sido efectuadas con Pseudomonas aeruginosa.

Las investigaciones sobre la viabilidad viral se han efectuado utilizando el HSV 1 y HSV 2. Los hisopos que acompañan cada sistema de transporte se inocularon por triplicado con 100 µL de concentraciones específicas de suspensión de organismos. Los hisopos se habían puesto en sus respectivos tubos de transporte provistos del medio de transporte y se habían apartado por 0, 24 y 48 horas, tanto a 4° C de temperatura refrigerada como a temperatura ambiente (20 - 25°C). En cada intervalo de tiempo apropiado, cada hisopo se ha pasado por Vortex, extraído del tubo con el medio de transporte y una alícuota de 200µl de esta suspensión se ha inoculado en los shell vials. Todos los cultivos han sido procesados con técnicas estándar de cultivo en laboratorio y examinadas después de un periodo de incubación específico. La viabilidad de los organismos ha sido determinada tras recuento de los focos Fluorescentes.

Se han evaluado los siguientes organismos:
Herpes Simplex Virus Tipo 1 (HSV 1) ATCC VR-539
Herpes Simplex Virus Tipo 2 (HSV 2) ATCC VR-734.

En conformidad con el Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A, las performances sobre la viabilidad se miden por cada organismo sometido a prueba después de 24 horas y se comparan según el criterio de aceptación.

Durante los ensayos sobre las performances de viabilidad bien en Roll-Plate bien en Dilución del hisopo, el Sistema Copan MSwab™ mantuvo una recuperación aceptable de todos los organismos evaluados tanto con refrigeración (4 – 8º C) como a temperatura ambiente (20 – 25°C). La recuperación aceptable del Método Roll-Plate ha sido definida como ≥5 UFC después del tiempo de conservación especificado por la dilución que nos da un recuento en la placa, al tiempo cero, lo más cercano posible a las 300 UFC. La recuperación aceptable para el Método de Elución del Hisopo ha sido definida con decremento no superior a los 3 log10 (1 x 10^3 +/- 10%) de las UFC entre el momento cero del recuento de las UFC y las UFC de los hisopos después del tiempo de conservación especificado.

Otros puntos en el tiempo han sido probados para Staphylococcus aureus, ATCC 29213 y ATCC 6538, y para Staphylococcus aureus (resistente a la meticilina), ATCC 43300 y ATCC 700698.

En las investigaciones sobre las performances de viabilidad en Roll-Plate, el Sistema Copan MSwab™ mantuvo una recuperación aceptable de todos los organismos evaluados tanto a temperatura refrigerada (4 – 8º C) por 14 días, que a temperatura ambiente (20 – 25º C) por 72 horas.La recuperación aceptable para el Método Roll-Plate ha sido definida ≥5 UFC después del tiempo de conservación especificado por la dilución que nos da un recuento en la placa, al tiempo cero, lo más cercano posible a las 300 UFC.

Las investigaciones sobre las performances sobre la viabilidad comprenden también una evaluación del crecimiento excesivo de las bacterias a temperatura refrigerada (4 – 8°C). Para el Método de Elución del Hisopo ha sido efectuada una evaluación sobre el crecimiento excesivo de todas las especies de bacterias bajo testeo, después de las 48 horas de conservación. La evaluación del crecimiento excesivo de con el Método de Elución del hisopo ha sido definido con incremento mayor de 1 log10 entre el tiempo cero del recuento de las UFC y el tiempo de conservación. Para el Método Roll-Plate, la evaluación del crecimiento excesivo se efectúa mediante análisis separado en el que los hisopos son dosificados con 100µl que contiene 10^2 UFC de cultivo de Pseudomonas aeruginosa. El crecimiento excesivo en estas condiciones se define como con un incremento mayor de 1 log10 de las UFC entre el tiempo cero del recuento de las UFC y el tiempo de conservación de 48 horas.

El Sistema Copan MSwab™ no ha detectado sobrecrecimiento alguno en base a los criterios de aceptación detallados en el Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A.

El Sistema Copan MSwab™ está en condiciones de mantener la viabilidad de los siguientes organismos por un lapso de tiempo de por lo menos 48 horas tanto a temperatura ambiente (20 – 25º C) como en refrigeración (2 – 8º C) a las condiciones arriba detalladas: Virus Herpes Simplex Tipo 1, Virus Herpes Simplex Tipo 2.

Mantenimiento de ácidos nucleicos

Las muestras recolectadas por analizar utilizando MSwab™ mediante técnicas de amplificación de ácidos nucleicos deben ser procesadas dentro de 14 días si se han conservado a temperatura ambiente (20-25°C), dentro de los 21 días si se han conservado a 4°C y dentro de los 6 meses si se han conservado a -20°C.
Pruebas sobre las performances de Copan MSwab™ se han efectuado utilizando suspensiones de cepas de laboratorio depositadas en el hisopo FLOQSwab conjuntamente al medio. Las cepas probadas incluyen: B. pertussis ATCC 8467, S. aureus (resistente a la meticilina) ATCC 43300, E. coli O157-H7 ATCC 700728, S. tiphimurium ATCC 14028, C. difficile ATCC 9689, Influenzavirus A ATCC VR-822, Influenzavirus B ATCC VR 786, Neisseria gonorrhoeae ATCC 43069 y Chlamydia trachomatis ATCC VR880. No se han efectuado pruebas sobre performances utilizando muestras humanas o matrices de origen humana.

Los logros realizados dependen bien de una apropiada recolección de muestras bien de un oportuno transporte y procesamiento en el laboratorio rápido y sin demoras.

Sistema de recolha, conservação e transporte «Copan MSwab™» para aplicações moleculares e cultura- Folheto ilustrativo e Guia à Utilização

Ver glossário dos símbolos no final do folheto ilustrativo

UTILIZAÇÃO PREVISTA
O sistema de recolha, transporte e conservação utiliza MSwab™ para a recolha e o transporte de amostras clínicas de levantamento no laboratório de análises. Uma vez no laboratório, as amostras MSwab™ podem ser analisadas através de procedimento standard para:
• a cultura bactérica gram-positivos de organismos aeróbicos e organismos anaeróbicos facultativos.
• a cultura de vírus HSV 1 e HSV 2
• a pesquisa de ácidos nucleicos de bactérias e vírus.

SUMÁRIO E PRINCIPIOS
Um dos procedimentos de rotina na diagnóstica das infeções bactéricas implica a recolha e o transporte em segurança dos tampões. Pode ser obtido com a utilização de Copan MSwab™ que é um sistema de recolha, transporte e conservação. Copan MSwab™ inclui um terreno de transporte e conservação concebido para manter a vitalidade das bactérias gram positivos aeróbicas e anaeróbicos facultativos, HSV 1 e HSV 2 durante o transporte até ao laboratório de análises.
Copan MSwab™ conserva os ácidos nucleicos de agentes patogénicos a identificar com técnicas de amplificação molecular (NAAT).

O sistema de recolha, transporte e conservação Copan MSwab™ é fornecido em três formatos diferentes:
a) Formato kit de recolha. Cada kit de recolha consiste numa embalagem com um tubo de ensaio com tampa roscada, com fundo cónico que contém 1 ml de terreno de transporte e conservação MSwab™, assim como um saco estéril de rasgo que contém um zaragatoa para a recolha de amostras com uma extremidade flocada com fibra de nylon.
b) Formato só tubo de ensaio. Um tubo de ensaio com tampa roscada, com fundo cónico com 1 ml ou 2 ml de terreno de transporte e conservação MSwab™.
c) Formato kit de recolha com zaragatoa de limpeza. Cada kit de recolha compreende uma embalagem que contém um tubo de ensaio com tampa de enroscar, com fundo cónico com 2 ml de terreno de transporte e conservação MSwab™, assim como uma embalagem estéril pelável com um zaragatoa FLOQSwab™ para recolha de amostras com uma extremidade recoberta de fibra de nylon, e uma embalagem estéril pelável com um zaragatoa de limpeza com ponta mais larga em fibra envolvida para a remoção do muco vaginal em excesso.

Uma vez recolhida a amostra no zaragatoa, esta deve ser introduzida imediatamente no tubo de ensaio MSwab™ para o transporte. As amostras recolhidas com a utilização de MSwab™ a analisar com técnicas de cultura bactérica ou viroses devem ser transportados diretamente ao laboratório, de preferência entre 2 horas da recolha (1, 2, 7) de modo a manter a vitalidade ótima dos micro-organismos. Se a entrega ou a análise imediata tem atraso, as amostras devem ser refrigeradas a 4-8ºC ou conservadas a temperatura ambiente (20-25ºC) e analisadas entre 48 horas. Os estudos sobre a vitalidade bactérica de Staphylococcus aureus, ATCC 29213 e ATCC 6538, e de Staphylococcus aureus (meticilina resistente) ATCC 43300 e ATCC 700698 demonstram que a vitalidade dos micro-organismos testados dura até 14 dias se em ambiente refrigerado (4 – 8° C) ou por 72 horas a temperatura ambiente (20 – 25° C). De estudos científicos independentes sobre os sistemas de transporte dos tampões demonstram que para algumas bactérias a vitalidade é maior se forem submetidos a refrigeração em relação a temperatura ambiente. Se as amostras virais devem ser congeladas, devem estar a -70ºC.
As amostras recolhidas através de MSwab™ para pesquisa de ácidos nucleicos bactéricos ou virais devem ser analisados entre 14 dias se forem conservados a temperatura ambiente (20 - 25ºC), entre 21 dias se conservados a 4ºC e enre 6 meses se conservados a -20ºC.

REAGENTES
Formulação do terreno de transporte MSwab™
TRIS HCl
EDTA
TRIS Base
Dimetilsulfóxido (DMSO)
Soroalbumina bovina
Água destilada

PRECAUÇÕES
1. Este produto é destinado exclusivamente a utilização diagnóstica em vidro.
2. Adoptar as precauções relativas ao risco biológico e as técnicas esterilização aprovadas. Deve ser usado apenas por pessoal formado e qualificado.
3. Todas as amostras, e os materiais usados para as processar, devem ser consideradas potencialmente infectadas e devem ser manipuladas com moù dalidade que previnam a infecção do pessoal do laboratório. Após a utilização, esterilizar todos os resíduos com risco biológico inclusive as amostras, os recipientes e os terrenos. Respeitar as outras recomendações relativas ao Nível 2 de bio-segurança emitidas pelo CDC (31, 32, 33, 34),
4. As instruções devem ser lidas e seguidas com atenção.

CONSERVAÇÃO
Este produto é pronto para ser utilizado e não necessita de ulteriores preparações. Deve ser conservado no recipiente original a 5-25ºC até ao momento da utilização. Não sobreaquecer. Não encubar ou congelar antes da utilização. A conservação efectuada de modo incorrecto tem como consequência a perda de eficácia. Não usar após a data de validade, que está imprimida no recipiente externo assim como em cada uma das unidades de recolha e na etiqueta do tubo de ensaio da amostra.

DETERIORAMENTO DO PRODUTO
O Copan MSwab™ não deve ser usado se (1) houver danos evidentes ou contaminação do produto, (2) se houver perdas evidentes, (3) a data de validade tiver sido ultrapassada, (4) a embalagem do zaragatoa estiver aberta, (5) haja outros sinais de deterioramento.

RECOLHA, CONSERVAÇÃO E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS
As amostras levantadas para análises microbiológicas que prevêem o isolamento de bactérias ou de viroses devem ser levantadas e manuseadas seguindo as linhas guia e os manuais publicados (7,8,4).

De modo a manter a óptima vitalidade dos micro-organismos e a integridade dos ácidos nucleicos, transportar as amostras recolhidas com a utilização de MSwab™ diretamente ao laboratório, e preferência entre 2 horas da recolha (1, 2, 7). Se a entrega ou a análise imediata tem atraso, as amostras devem ser refrigeradas a 4-8ºC ou conservadas a temperatura ambiente (20-25ºC) e analisadas entre 48 horas. Os estudos sobre a vitalidade bactérica de Staphylococcus aureus, ATCC 29213 e ATCC 6538, e de Staphylococcus aureus (meticilina resistente) ATCC 43300 e ATCC 700698 demonstram que a vitalidade dos micro-organismos testados

mantém-se até 14 dias se em ambiente refrigerado (4 – 8° C) ou por 72 horas a temperatura ambiente (20 – 25° C). Se as amostras virais devem ser congeladas, devem estar a -70ºC.
As amostras recolhidas através de MSwab™ para serem analisadas entre 14 dias se forem conservados a temperatura ambiente (20 - 25ºC), entre 21 dias se conservados a +4ºC e enre 6 meses se conservados a -20ºC.

Os requisitos específicos de expedição e de manipulação das amostras devem ser completamente conformes às normativas de estatais e federais (34,35,36,37). O envio das amostras para instituições médicas deve ser efectuada em conformidade com as linhas guia da instituição. Todas as amostras devem ser submetidas a análise assim que forem recebidas no laboratório.

MATERIAIS FORNECIDOS
A embalagem de venda contém cinquenta (50) MSwab™ unidades de recolha, e uma caixa contém 6 x 50 unidades.

O sistema de recolha, transporte e conservação Copan MSwab™ é fornecido em três formatos diferentes:
a) Formato kit de recolha. Cada kit de recolha consiste numa embalagem com um tubo de ensaio com tampa roscada, com fundo cónico que contém 1 ml de terreno de transporte e conservação MSwab™, assim como um saco estéril de rasgo que contém um zaragatoa FLOQSwab™ para a recolha de amostras com uma extremidade flocada com fibra de nylon.
b) Formato só tubo de ensaio. Um tubo de ensaio com tampa roscada de plástico, com fundo cónico com 1 ml ou 2 ml de terreno de transporte e conservação MSwab™.
c) Formato kit de recolha com zaragatoa de limpeza. Cada kit de recolha compreende uma embalagem que contém um tubo de ensaio com tampa de enroscar, com fundo cónico com 2 ml de terreno de transporte e conservação MSwab™, assim como uma embalagem estéril pelável com um zaragatoa FLOQSwab™ para recolha de amostras com uma extremidade recoberta de fibra de nylon, e uma embalagem estéril pelável com um zaragatoa de limpeza com ponta mais larga em fibra envolvida para a remoção do muco vaginal em excesso.

Existem dois tipos de tampões para a recolha das amostras: um zaragatoa de medida standard com ponta flocada em nylon destinado às amostras na garganta, vagina, feridas, reto e fezes; um zaragatoa perinasal com ponta flocada em nylon para a recolha da rinofaringe. Todos os tampões flocados fornecidos com MSwab™ têm m ponto de ruptura na haste do zaragatoa, marcado por uma linha colorida. Após a recolha da amostra do paciente, o ponto de fratura pré-imprimido facilita a ruptura do aplicador no tubo de ensaio com o terreno de transporte MSwab™.
A especial conformação interna das tampas dos tubos de ensaio, com forma de funil, permite de fixar a haste do zaragatoa depois da ruptura, Enroscando a tampa no tubo de ensaio a extremidade da haste é deslocada na cavidade da tampa. Quando o tubo de ensaio se abre no laboratório de análise aplicador fica agarrado à tampa e o operador pode facilmente tirá-lo do tubo de ensaio e efetuar as análises microbiológicas utilizando a tampa como pega.
A tampa com a característica especial de fixação da haste não é prevista para os tampões perinasais (6E013N) que, sendo muito flexíveis, não podem ser bem bloqueados no interior da cavidade.

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS
Materiais apropriados para o isolamento e à cultura de bactérias aeróbicas e anaeróbicas facultativas.
Entre estes materiais nomeamos placas ou tubos de ensaio e sistemas de encubação. Para os protocolos recomendados relativos às técnicas de cultura e identificação das bactérias aeróbicas e anaeróbicas facultativas de tampões das amostras clínicas pedimos ao utilizador de ter como referência os manuais de laboratório. (2, 4).
Materiais apropriados ao isolamento e à diferenciação e à cultura de viroses. Estes materiais incluem linhas celulares para a cultura de tecidos, terreno de cultura para tecidos, sistemas de encubação e instrumentos de leitura. Fazer referência às referências apropriadas para os protocolos recomendados para o isolamento e a identificação de viroses (1, 7).
Materiais apropriados à extração e à amplificação de ácidos nucleicos para testes de biologia molecular. Bloqueio aquecedor e centrífuga para métodos de extração rápida. Fazer referência aos manuais de laboratório para a identificação e ampliaçã dos ácidos nucleicos nas amostras clinicas por zaragatoa.

Em caso de métodos de extração rápida, sugerimos de transferir a alíquota de MSwab™ (fazer referência ao parágrafo Tratamento das amostras MSwab™ para análise molecular no laboratório, Método B) em tubo de ensaio Copan com berlindes de vidro (codigo disponível em separado 2E013S050)

INSTRUÇÕES PARA A UTILIZAÇÃO
O Sistema de recolha, conservação e transporte Copan MSwab™ está disponível nas configurações produto especificadas na tabela seguinte.

Tabela 1

Nº de catálogo	Descrição Produtos Copan MSwab™	Conteúdo embalagens
6E012N	Embalagem descartável para a recolha de amostras com: - Tubo de ensaio 12 x 80 mm com tampa de enroscar com 1 ml de terreno de transporte e conservação MSwab™. - Um zaragatoa FLOQSwab de dimensões standard com ponta flocada em nylon, estéril e embalado individualmente.	50 unidades/caixa 6x50 unidades/cartão
6E013N	Embalagem de recolha das amostras descartáveis contém: - Tubo de ensaio 12 x 80 mm com tampa de enroscar com 1 ml de terreno de transporte e conservação MSwab™. - Um zaragatoa FLOQSwab perinasal com ponta flocada em nylon, estéril e embalado individualmente.	50 unidades/caixa 6x50 unidades/cartão
6E011N	Tubo de ensaio para transporte e conservação individual: - 1 ml de Terreno de transporte e conservação MSwab™ no tubo de ensaio 12 x 80 mm com fundo cónico e tampa de enroscar	50 unidades/caixa 6x50 unidades/cartão
6U019N	Tubo de ensaio para transporte e conservação individual: - 2 ml de Terreno de transporte e conservação MSwab™ no tubo de ensaio 12 x 80 mm com fundo cónico e tampa de enroscar	50 unidades/caixa 6x50 unidades/cartão
6E028N.MER	Embalagem descartável para a recolha de amostras com: - Tubo de ensaio 12 x 80 mm com tampa de enroscar com 2 ml de terreno de transporte e conservação MSwab™. - Um zaragatoa FLOQSwab de dimensões standard com ponta flocada em nylon, estéril e embalado individualmente. - Um zaragatoa em fibra envolvida com ponta larga, estéril e embalado individualmente.	50 unidades/caixa 6x50 unidades/cartão

São disponíveis outras referências de produto. Para actualizações visitar o nosso website: www.copanflock.com

Recolha das amostras

A correcta recolha das amostras do paciente é extremamente importante para que o isolamento e a identificação dos organismos infectados se efectuem com sucesso. Para instruções mais detalhadas sobre os procedimentos de recolha consultar os manuais de referência publicados em matéria (7.2).

Não utilizar o terreno MSwab™ para humedecer ou molhar o zaragatoa de análise antes da recolha da amostra biológica ou para enxaguar ou regar a zona de levantamento.

Para os códigos MSwab™ 6E012N e 6E013N:

1. Abrir a embalagem do kit e remover o tubo de ensaio de terreno de transporte e o saco interior que contém o aplicador do zaragatoa estéril (ver Figura 1).
2. Remover o zaragatoa de análise da embalagem pelável e usá-lo para recolher a amostra clínica. O operador deve tocar o aplicador do zaragatoa apenas acima da linha de ruptura colorida, como ilustrado na Figura 1 que está na extremidade oposta à ponta de nylon flocada. O operador nunca deve tocar, no curso da manipulação do aplicador do zaragatoa, a zona abaixo da linha de ruptura (a zona que vai da linha até à ponta flocada em nylon do zaragatoa) dado que pode provocar contaminação da haste do aplicador e por consequência da cultura.
3. Levantar a amostra do paciente.
4. Desenroscar e tirar a tampa do tubo de ensaio MSwab™ certificando-se que o terreno de transporte não saia.
5. Introduzir o zaragatoa no tubo de ensaio até que o ponto de fractura marcado a vermelho não se encontre ao nível da boca do tubo de ensaio.
6. Dobrar e partir o zaragatoa em correspondência do ponto de fratura marcado a vermelho como mostrado na Figura 1 e prestando atenção a ter o tubo de ensaio afastado do rosto.
7. Eliminar a pega partida da haste do zaragatoa num recipiente autorizado para o desmantelamento do lixo sanitário.
8. Colocar novamente a tampa no tubo de ensaio e fechar bem.
9. Escrever os dados do paciente na etiqueta do tubo de ensaio ou aplicar a etiqueta identificativa do paciente. Enviar a amostra ao laboratório de análises.

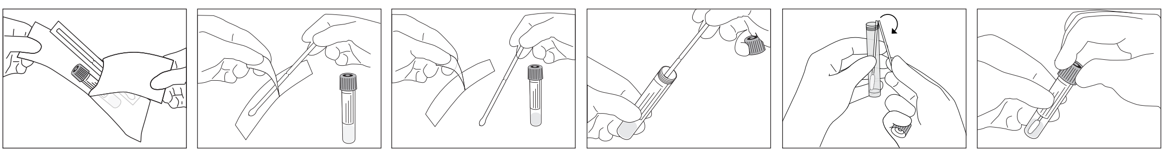
Para o código MSwab™ 6E028N.MER:

1. Abrir a embalagem do kit, remover o tubo de ensaio de terreno e transporte e as duas embalagens internas com o zaragatoa estéril, e uma com o cotonete de limpeza “Cleaning Swab” com ponta larga
2. O uso de cotonete de limpeza é recomendado apenas no caso de procedimento de recolha de amostra endocervicais. O cotonete de limpeza (suabe com ponta grande en fio envolto) - veja a Figura 1, só é usado para remover o excesso de muco presente na abertura do colo do útero e da mucosa circundante. **Após o uso, retirar o tampão.**
   No caso de procedimento de recolha de amostras diferente do amostras endocervicais, o cotonete de limpeza não deve ser utilizado e deve ser eliminada.
3. Para o levantamento de amostras clínicas seguir as instruções descritas para os códigos 6E012N e 6E013N do ponto 2 em seguida.

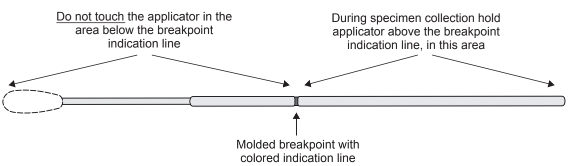
Para os códigos MSwab™ 6E011N e 6U019N:

1. Após ter levantado a amostra do paciente através de um zaragatoa, desenroscar e tirar a tampa do tubo de ensaio MSwab™ certificando-se que o terreno de transporte não saia.
2. Introduzir o zaragatoa no tubo de ensaio.
3. Se o tampão tem um ponto de fractura, dobrar e partir o zaragatoa em correspondência do ponto de fratura prestando atenção a ter o tubo de ensaio afastado do rosto.
5. Colocar novamente a tampa no tubo de ensaio e fechar bem.
6. Escrever os dados do paciente na etiqueta do tubo de ensaio ou aplicar a etiqueta identificativa do paciente. Enviar a amostra ao laboratório de análises.

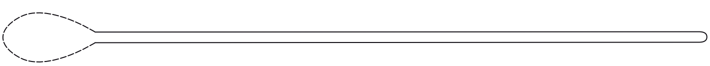
Fig 1. Zaragatoa para recolha com a linha de indicação de ruptura e zona para a manipulação do aplicador.



COLLECTION SWAB



CLEANING SWAB



O operador deve tocar apenas a parte da haste do aplicador do zaragatoa acima da linha de indicação do ponto de ruptura como mostrado na Fig. 1. Após ter levantado a amostra do paciente no zaragatoa, partir a haste do aplicador do zaragatoa no ponto da linha de ruptura colorida, no tubo de ensaio MSwab™ com o terreno de transporte MSwab™. O operador deve eliminar a parte do zaragatoa assim separada num recipiente para o lixo sanitário aprovado. A tampa roscada do tubo de ensaio é recolocada e fechada com força A acção de enroscamento da tampa no tubo de ensaio empurra a extremidade da haste do aplicador num receptáculo à forma de funil na tampa (ver Fig. 2) Esta cavidade imprimida à forma de funil captura a extremidade da haste do aplicador partida e bloqueia a fricção.

Fig 2. Fixação da haste partida do zaragatoa partido da parte da tampa do tubo de ensaio MSwab™



Função Tampa Preênsil é garantida apenas com a utilização do Tampão Flocado Copan de dimensões standard.

No laboratório de análises quando a tampa MSwab™ é desenroscada e removida, a haste do aplicador d zaragatoa fica agarrada à tampa de modo seguro. Esta função permite ao operador de remover o zaragatoa facilmente e de efectuar as várias analises micro biológicas usando a tampa do tubo de ensaio como presa para agarrar e manipular o zaragatoa.

NOTA SOBRE A FUNÇÃO DE CAPTURA DA TAMPA:
A tampa é perfilada de modo a permitir a fixação quando é utilizado e partido no interior do tubo de ensaio um Tampão Flocado Copan de dimensões standard. Se usar um zaragatoa perinasal a função de captura não é garantida.
O zaragatoa perinasal (6E013N) deve ser removido atentamente do tubo de ensaio imediatamente antes de proceder com a análise da amostra. Esta precaução permite de evitar a queda acidental da amostra da tampa.

Processamento das amostras MSwab™ no laboratório – Bacteriologia

As amostras MSwab™ devem ser processadas para os fins da cultura bacteriológica com utilização de terrenos de cultura e as técnicas de laboratório aconselhadas, que dependem do tipo de amostra e do organismo submetido a analise. Para os terrenos e as técnicas de cultura para o isolamento e a identificação de bactérias provenientes de amostras dos tampões clínicos, fazer referência aos manuais e às linhas guia publicadas relativos à microbiologia (1-6).
As analises nas culturas de amostras para a pesquisa da presença de bactérias implicam de rotina a utilização de terreno de cultura agar sólido em placas Petri. O processo de inoculação das amostras MSwab™ em agar sólido em placas Petri è a seguinte.

Obs.: Durante a manipulação dos campos clínicos, usar luvas em látex e todos os outros dispositivos de protecção necessários. Respeitar as outras recomendações relativas ao Nível 2 de bio-segurança emitidas pelo CDC (31, 32, 33, 34),

Agitar o tubo de ensaio MSwab™ com a amostra do zaragatoa por 5 segundos para separar a amostra da ponta do zaragatoa e dispender de modo uniforme no terreno de cultura a amostra paciente.

1. Desapertar a tampa MSwab™ e remover o aplicador do zaragatoa.
2. Rodar a tampa do aplicador MSwab™ na superfície de um quadro da placa com o terreno de cultura para efectuar o inóculo primário.
3. Se necessário submeter a amostra do zaragatoa a cultura numa segunda placa, colocar o aplicador MSwab™ por dois segundos no tubo de esaio com o terreno de transporte, para absorver e recarregar a ponta do aplicador com a suspensão de terreno de cultura / amostra paciente e repetir o Passo nº 3.
4. Se for necessário inocular ulteriores placas de cultura, colocar o aplicador MSwab™ no tubo de ensaio com o terreno de transporte, e recarregar a ponta do aplicador com a suspensão de terreno de cultura / amostra paciente antes de inocular cada uma das placas adicionais.

O processo acima descrito utiliza aplicador MSwab™ como uma alça para inoculação para transferir a suspensão da amostra paciente no terreno até à superfície da placa de cultura, criando o inóculo primário (ver Fig. 3)
Em alternativa, o operador pode agitar o tubo de ensaio MSwab™ com o zaragatoa no seu interno pelo menos por 5 segundos, e depois transferir 100µl de suspensão nas placas individuais de cultura através de uma pipeta volumétrica com ponta estéril. Para passar o inóculo primário da amostra do paciente na superfície da placa seguir os procedimentos standard de laboratório (ver Fig 4).

Fig 3. Procedimentos de inoculação das amostras MSwab™ em agar sólido em placas Petri.

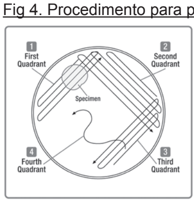


1. Utilização do zaragatoa para inocular a amostra



2. Utilização da pipeta e das pontas estéreis para inocular 100µl de amostra Este procedimento de inoculação deve ser considerada de preferência se a amostra clinica for analisada com técnicas NAAT.

Fig 4. Procedimento para passar as amostras MSwab™ em placas Petri para o isolamento primário (33)



Efectuar um inóculo primário de amostra MSwab™ sobre a superfície de uma placa de cultura em agar no primeiro quadro.

Usar uma alça estéril para bacteriologia para passar o inóculo primário sobre a superfície do segundo, terceiro e quarto quadro da placa de cultura em agar.

Preparação de fitas com cores de Gram de amostras MSwab™

A análise de laboratório das amostras em tampões clínicos recolhidos de algumas partes do paciente pode incluir de rotina o exame microscópico de preparações coloridas ("fitas directas") com a utilização de procedimento de cor de Gram Isto pode fornecer informações de grande valor aos médicos que tratam pacientes com doenças infectadas. São muitos os casos cujo uma cor de Gram pode ser de ajuda para efectuar uma diagnose (23, 27).
A cor Gram também pode contribuir a avaliar a qualidade das amostras e contribuir à selecção dos terrenos de cultura, em especial em caso de flora mista os vidrinhos de microscópio das amostras paciente transportados no sistema de transporte Copan MSwab™ podem ser preparados para a análise da cor de Gram como descrito mais além, amostrando uma alíquota da suspensão vortex do zaragatoa (3, 4). As amostras transportadas com o terreno de eluição MSwab™ representa, uma suspensão homógenea em fase líquida. Podem ser passados de modo uniforme, que permite uma leitura clara e simples.

Obs.: Durante a manipulação dos campos clínicos, usar luvas em látex e todos os outros dispositivos de protecção necessários. Respeitar as outras recomendações relativas ao Nível 2 de bio-segurança emitidas pelo CDC (31, 32, 33, 34),

1. Pegar num vidrinho de microscópio limpo, colocá-lo numa superfície plana e inscreber uma área usando uma ponta diamantada ou instrumento similar para identificar a posição do inóculo da amostra. Obs.: também pode ser usado um vidrinho com poço pré-marcado de 20 mm.

2. Agitar o tubo de ensaio MSwab™ com a amostra do zaragatoa por 5 segundos para separar a amostra da ponta do zaragatoa e dispender de modo uniforme no terreno de cultura a amostra paciente.

3. Desapertar a tampa MSwab™ e, usando uma pipeta estéril, transferir 1 – 2 gotas de suspensão da amostra na superfície marcado no vidrinho. Obs.: 30 µl cerca constituem uma quantidade de líquido apropriada a um poço de 20 mm de diâmetro pré-marcado.
Em caso de amostras densas ou com sangue, deve ser adoptada uma atenção especial para espalhar bem a amostra no vidro. As bactérias são difíceis de detectar se a amostra tem muitos glóbulos vermelhos e detritos.

4. Aguardar que as amostras no vidro seque ao ar a temperatura ambiente, ou colocar o vidrinho num aquecedor eléctrico ou numa encubadora para vidrinhos a uma temperatura não superior a 42ºC.

5. Fixar as fitas com metanol. A fixagem com metanol é aconselhado porque previne a lise dos glóbulos vermelhos, evita que todas as celulas hóspedes se danifiquem e dá como resultado um fundo mais limpo. (3,4,22).

6. Para efectuar a cor de Gram seguir as linhas guia e os manuais de laboratório de referência. Se forem usados reagentes para coloração de Gram comerciais, é importante respeitar as instruções no folheto ilustrativo do produtor para o processo do test de desempenho.

Para mais informações ou guia na preparação dos vidrinhos das amostras para a análise microscópica, para informações sobre os processos para a coloração de Gram e para a interpretação e o reporting das análises ao microscópio, consultar os manuais de laboratório de referência publicados (1 - 5, 22 - 27).

Processamento das amostras MSwab™ no laboratório – Virologia

A sobrevivência de HSV 1 e de HSV 2 depende de muitos factores, incluise o tipo e a concentração do micro-organismo, a duração do transporte e a temperatura de conservação. De modo a manter a vitalidade óptima, as amostras devem ser transportadas directamente ao laboratório, de preferência entre 2 horas da recolha (1, 2, 7, 29). Se a entrega ou analises imediatas atrasam, as amostras recolhidas com a utilização do Sistema de recolha, transporte e conservação MSwab™ devem ser refrigerados a 4–8º C ou conservados a temperatura ambiente (20 – 25° C) e processados entre 48 horas. Se as amostras devem ser congeladas, devem estar a -70ºC.

Nos estudos de simulação de transporte e conservação, o Sistema Copan MSwab™ demonstrou de ser capaz de manter a vitalidade HSV 1 e de HSV 2 em condições de temperatura refrigerada (4-8° C) e a temperatura ambiente (20-25° C) até 48 horas. Na base dos estudos sobre performance efectuados pela Copan e por publicações científicas independentes, a vitalidade de alguns micro-organismos é superior a temperatura a temperatura refrigerada em comparação com aquela a temperatura ambiente (12 – 21, 29).

As amostras MSwab™ devem ser processadas para os fins da cultura virológica com utilização de linhas celulares e as técnicas de laboratório aconselhadas, que dependem do tipo de amostra e do organismo submetido a análise. Para as shell vials e as técnicas recomendadas para o isolamento e a identificação de HSV 1 e HAV 2 das amostras dos tampões clínicos, ter como referência as linhas guia e os manuais de virologia publicados (1 - 6, 29, 30).

As análises das culturas de amostras em tampões para a presença de HSV 1 e HSV 2 implica de rotina a utilização de culturas celulares em shell vials. O processo de inoculação das amostras MSwab™ nas shell vials é descrito em seguida:

1. Obs.: Durante a manipulação dos campos clínicos, usar luvas em látex e todos os outros dispositivos de protecção necessários. Respeitas as outras recomendações de BSL 2.
2. Agitar o tubo de ensaio MSwab™ com a amostra do zaragatoa por 5 segundos para separar a amostra da ponta do zaragatoa e dispender de modo uniforme no terreno de cultura a amostra paciente.
3. Desapertar a tampa MSwab™ e remover zaragatoa.
4. Transferir volumes de 200 µl da suspensão na shell vial e proceder seguindo o procedimento interno do laboratório.

OBS.: As amostras paciente que possam conter uma carga elevada de contaminantes bactéricos podem exigir a adição de antibióticos ao terreno de manutenção e cultura das celulas.

5. Proceder com as técnicas apropriadas à detecção dos vírus.

Tratamento das amostras MSwab™ para análises moleculares no laboratório

Para as amostras cujas são previstas a pesquisa de ácidos nucleicos aconselhamos a analise imediata após a chegada no laboratório. Em caso de atraso fazer referência às relativas condições de conservação.

OBS.: Para a manipulação das amostras clínicas utilizar luvas em latex e outros meios de protecção geral. Respeitar o nível de bio-segurança (BSL) 2 estabelecido pelo CDC (31, 32, 33 e 34).
Na utilização de métodos moleculares tomar as precauções necessárias apropriadas para evitar que a contaminação se difunda. A separação dos espaços de trabalho e um fluxo de trabalho unidirecional são fundamentais para prevenir a contaminação do amplicon (35).

A formulação do terreno MSwab™ foi desenvolvida para ser compatíve com PCR Master Mix, isto torna MSwab™ apropriado para aplicações diretas de amplificação de ácidos nucleicos sem a necessidade de uma passagem de extração standard e de purificação.
Duas metodos diferentes (A e B) podem ser aplicados para o processamento das amostras MSwab™:

A) Métodos de extração standard

1. Misturar o tubo de ensaio MSwab™ num vortex por 10 segundos, desenroscar a tampa e, segurando-a entre o polegar e o indicador, agitar para fazer sair a maior parte do fluido da ponta.

OBS.: A tampa com a característica especial de fixação da haste não é prevista para os tampões perinasais (6E013N) que, sendo muito flexíveis, não podem ser bem bloqueados no interior da cavidade. Neste caso, após ter deixado sair o fluido do pontal, extrair o aplicador do tubo de ensaio utilizando uma pinça.

2. Eliminar o zaragatoa e transferir o quantitativo de amostra apropriado (es. 200 ul) num tubo de ensaio de extração seguindo os procedimentos normais do laboratório.
3. Seguir de acordo com os procedimentos de extração e amplificação dos kit utilizados

O sistema MSwab™ foi convalidado com os seguintes metodos de extração: membrana de gel-silice (Qiagen, Macherey & Nagel), berlindes magnéticos (EasyMAG, Qiasymphony, Magnapure). Outros métodos de extração são aplicáveis com convalidação prévia.

B) Métodos de extração rápida

Para a pesquisa de contaminação viral, aconsehamos uma passagem de shock térmico para alisar as amostras.

1. Agitar o tubo original da amostra MSwab™ por 10 segundos.

OBS.: A tampa com a característica especial de fixação da haste não é prevista para os tampões perinasais (6E013N) que, sendo muito flexíveis, não podem ser bem bloqueados no interior da cavidade.

2. Utilizando uma micro pipeta, transferir 200 ul da amostra MSwab™ num micro tubo de ensaio estéril com berlindes de vidro (2E013S50: tubo de ensaio Copan com berlindes de vidro, disponível em separado) e agitar por 10 segundos. Conservar a amostra de MSwab™ original para a cultura ou testes adicionais.
3. Aquecer o micro tubo de ensaio num termóstato programado a 98º-100ºC pelo menos:
   -3 minutos para Vírus
   - 10 minutos para Bactérias gram positivas
   - 5 minutos para Bactérias gram negativas
4. Arrefecer o tubo de ensaio a temperatura ambiente por 5 minutos
5. Centrifugar o mini tubo de ensaio a 10000xg por 2 minutos para sedimentar os detritos celulares.
6. Transferir uma alíquota da amostra MSwab™tratado na master mix e continuar com a passagem de amplificação de acordo com o procedimento do kit de amplificação.

O método de extração rápida descrito acima foi testado com R-Biopharm RIDA®GENE Real Time PCR kits, Seegene Anyplex FluA/B Typing Real Time detection kit e com Genesig Real Time PCR kits by Primer Design em comparação com métodos de extração rápida. Outros métodos de extração PCR são aplicáveis com convalidação prévia. As grelhas testadas incluem: B. pertussis (ATCC 8467), S. aureus (meticillina resistentes) (ATCC 43300), E. coli O157-H7 (ATCC 700728), S. tiphimurium (ATCC 14028), C. dificil (ATCC 9689), Gripe A virus (ATCC VR-822), Gripe B virus (ATCC VR 786), Neisseria gonorrhoeae (ATCC 43069) e Chlamydia trachomatis (ATCC VR880). Os testes não foram conduzidos utilizandos matrizes de origem humana.

Os resultados obtidos dependem totalmente do modo correto das operações de recolha, transporte e análises de laboratório.

CONTROLO QUALIDADE

Os aplicadores MSwab™ são testados para garantir que não sejam tóxicos para as bactérias. O terreno de transporte e os aplicadores MSwab™ são testados para garantir que não sejam tóxicos para as linhas celulares usadas para a cultura de HSV 1 e di HSV 2. O terreno de transporte MSwab™ foi testado em relação à estabilidade do pH e pela ausência de inibidores através de técnicas de amplificação direta (9). O MSwab™ é submetido a testes de controle qualidade antes da comercialização em relação à sua capacidade de manter a vitalidade das bactérias Gram positivos aeróbicas e anaeróbicas facultativas e dos virus HSV a temperatura ambiente (20 – 25° C) por períodos específicos. Os processos de controle qualidade dos dispositivos de transporte micro biológico devem ser efectuados conforme os métodos de testes descritos pela Clinica and Laboratory Standards Institute M40-A e por outras publicações (9), Caso se notem resultados de controle aberrantes, os resultados pacientes não devem ser levados.

RESTRIÇÕES

1. No laboratório, durante a manipulação dos campos clínicos, usar luvas em látex e todos os outros dispositivos de protecção necessários. Durante a manipulação ou das análises de amostras paciente, respeitar o nível de bio segurança 2 estabelecido pelo CDC (31, 32, 33, 34).
2. As condições, o tempo e o volume das amostras recolhidsa para a cultura são elementos significativos para obter resultados de confiança. Seguir as linhas guia recomendadas para a recolha das amostras. (7, 8, 4).
3. MSwab™ é destinado à utilização de terreno de recolha e transporte para a cultura de bactérias Gram positivas aeróbicas e anaeróbicas facultativas, virus HSV 1 e HSV 2 e paa a pesquisa de ácidos nucleicos de bactérias e virus,
   O MSwab™ não pode ser usado como terreno de enriquecimento, de selecção ou diferencial.
4. O terreno de cultura MSwab™ não contém antibióticos. As amostras paciente que possam conter uma carga elevada de contaminantes bactéricos podem exigir a adição de antibióticos ao terreno de manutenção e cultura das celulas.
5. Os testes de performance de Copan MSwab™ foram efectuados utilizando grilhas de laboratório aplicados num zaragatoa seguindo os protocolos de testes descritos nos Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A Approved Standard (9). Os testes de performance não foram efectuados com a utilização de amostras humanas.
6. Os testes de performance de Copan MSwab™ foram efectuados utilizando tampões flocados Copan.

ADVERTÊNCIAS

1. Para utilização diagnóstica em vidro.
2. Não esterilizar novamente os tampões inutilizados antes da utilização.
3. ⊗ Este produto é exclusivamente descartável; a sua re-utilização pode causar risco de infecção e/ou resultados não exactos.
4. Não re-embalar.
5. Não utilizar para aplicações diferentes da utilização estabelecida.
6. A utilização do produto com um kit de diagnose rápida ou com instrumentos diagnósticos deve ser validado à prior pelo utilizador.
7. Não utilizar em caso de evidentes sinais de danificação (ex., ponta ou haste do zaragatoa partidos)
8. Não forçar ou prensar de modo excessivo na fase de recolha das amostras dos pacientes, dado que pode provocar a ruptura da haste do zaragatoa.

9. Não utilizar o mesmo tubo de ensaio para mais de um paciente. Pode causar diagnosticos errados ou de pouco valor.
10. Certificar-se que a tampa de enroscar MSwab™ esteja bem fechada antes de transportar a amostra.
11. Eliminar os reagentes não utilizados, o lixo e as amostras de acordo com o regulamento local.
12. Evitar o contacto do terreno MSwab™ com a pele e membranas mucosas. Se houver contato, enxaguar com abundante água.
13. Não ingerir o terreno de transporte.
14. Seguir atentamente as instruções de utilização. O produtor declina toda e qualquer responsabilidade derivada da utilização da parte de pessoas não qualificadas ou não autorizadas.
15. A manipulação do produto deve ser efectuada exclusivamente por pessoal qualificado.
16. Deve-se presumir que todas as amostras contém micro-organismos infectados, por isso aconselhamos a máxima cautela. Após a utilização desmante lar os tubos de ensaio e os tampões em conformidade com a praxe de laboratório relativa aos resíduos infectados. Respeitar o nível de bio-segurança 2 estabelecido pelo CDC (31, 32, 33, 34).
17. Não utilizar o terreno de transporte MSwab™ para humedecer o aplicador antes da recolha, para enxaguar ou para a dosagem nos locais de recolha.

RESULTADOS
Os resultados obtidos dependem na maioria dos casos da recolha correcta e apropriada da amostra, assim como do transporte tempestivo e processo no laboratório.

CARACTERÍSTICAS DE PERFORMANCE

Recuperação de bactérias
Os procedimentos de analises usadas para determinar as performance relativas à vitalidade bactérica foram baseadas em métodos de controle qualidade descritas no texto Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A (9).

O sistema MSwab™ é destinado unicamente à recolha de bactérias gram positivos aeróbicas e anaeróbicas facultativas e HSV 1 e HSV 2, por isso as suas aplicações em campo são mais reduzidas que outras de outros dispositivos. Por este motivo os estudos de recuperação bactérias foram efetuados nas condições de transporte e conservação simuladas assim como descritas e definidas em CLSI M40-A, Quality Control of Microbiological Transport Systems: Approved Standard e nesses foram incluídas as grilhas de bactérias Gram positivos aeróbicas e anaeróbicas facultativas do Grupo 1 do parágrafo 7.11.1 do documento CLSI M40-A, em especial:

Streptococcus pyogenes	ATCC® 19615
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 6305
Pseudomonas aeruginosa	ATCC® BAA-427

Para além disso, Copan incluiu o teste de outros micro-organismos aeróbicos e anaeróbicos facultativos Gram positivos de relevância clínica não solicitados por CLSI M40.A.
As grilhas bactéricas específicas usadas nestes estudos estão enumeradas de seguida:

Enterococcus faecalis	ATCC® 29212
Staphylococcus epidermidis	ATCC® 12228
Staphylococcus aureus	ATCC® 29213
Streptococcus agalactiae (Group B Strep)	ATCC® 13813
Kocuria rhizophila	ATCC® 9341
Listeria monocytogenes	ATCC® 19114
Bacillus cereus	ATCC® 10876
Staphylococcus aureus (Methicillin resistant)	ATCC® 43300
Staphylococcus aureus	ATCC® 6538
Staphylococcus aureus (Methicillin resistant)	ATCC® 700698
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 49136

Todas as culturas bactéricas eram de tipo ATCC (American Type Culture Collection) e foram obtidas por via comercial.

As seleções destes organismos reflete também as bactérias gram positivos aeróbicas e anaeróbicas facultativas que normalmente se encontram em amostras recolhidas e analisadas num laboratório tipico de microbiologia clínica.

Os estudos sobre a vitalidade bactérica foram efectuados em Copan MSwab™ a duas diferentes gamas de temperatura, 4 – 8° C e 20 – 25° C, correspondentes respectivamente à temperatura de refrigeração e à temperatura ambiente. Os tampões que acompanhavam cada um dos sistemas de transporte foram inoculados em triplicado com 100µl de concentrações especificas de suspensão de organismos. Os tampões foram colocados nos respectivos tubos de ensaio com terreno de transporte, forma mantidos por 0 horas, 24 horas e 48 horas. Nos intervalos temporais apropriados, cada um dos tampões foi processado em base ao método de Eluição do zaragatoa ou do Roll-Plate.

Ulteriores estudos sobre a vitalidade bactérica de Staphylococcus aureus, ATCC 29213 e ATCC 6538, e di Staphylococcus aureus (meticilina resistente) ATCC 43300 e ATCC 700698 foram efectuados em Copan MSwab™ em duas gamas de temperatura diferentes, 4 – 8° C e 20 – 25° C, correspondentes respectivamente à temperatura de refrigeração e à temperatura ambiente.
Os tampões que acompanhavam cada um dos sistemas de transporte foram inoculados em triplicado com 100µl de concentrações específicas de suspensão de organismos.
Os tampões foram colocados nos respectivos tubos de ensaio com terreno de transporte e:
Para os estudos efectuados a 4 – 8° C, os tubos de ensaio MSwab™ inoculados foram mantidos neste estado por 0 horas,10 dias e 14 dias. Aos intervalos temporais apropriados, cada um dos MSwab™ foi processado em base ao método Roll-Plate.
Para os estudos efectuados a 20 – 25° C, os tubos de ensaio MSwab™ inoculados foram mantidos neste estado por 0 horas e 72 horas. Aos intervalos temporais apropriados, cada um dos MSwab™ foi processado em base ao método Roll-Plate.

Os estudos sobre o sobrecrescimento bactérico foram efectuados na Copan MSwab™ a 4 – 8° C, correspondentes à temperatura de refrigeração. Os tampões que acompanhavam cada um dos sistemas de transporte foram inoculados em triplicado com 100µl de concentrações específicas de suspensão de organismos. Os tampões foram colocados nos respectivos tubos de ensaio com terreno de transporte, forma mantidos por 0 horas e 48 horas. Aos intervalos temporais apropriados, cada um dos tampões foi processado em base ao método Roll-Plate.
Os estudos sobre o sobrecrescimento bactérico foram efectuados com a utilização de Pseudomonas aeruginosa.

Os estudos sobre a vitalidade viral foram efectuados com a utilização de HSV 1 HSV 2. Os tampões que acompanhavam cada um dos sistemas de transporte foram inoculados em triplicado com 100µl de concentrações específicas de suspensão de organismos. Os tampões foram colocados nos respectivos tubos de ensaio com terreno de transporte, e foram mantidos por 0,24 e 48 horas seja a 4° C que a temperatura ambiente (20-25° C). Aos intervalos temporais apropriados, todos os tampões foram agitados, extraídos do seu tubo de ensaio com terreno de transporte e por isso uma alíquota de 200µl desta suspensão foi inoculada em shell vials. Todas as culturas foram processadas com técnicas standard de cultura em laboratório e examinadas após um período de encubação específico. A vitalidade dos

organismos foi determinada com a conta das foz fluorescentes.

Os seguintes organismos foram submetidos a avaliação:
Herpes Simplex Virus Type 1 (HSV 1) ATCC VR-539
Herpes Simplex Virus Type 2 (HSV 2) ATCC VR-734.

Conforme al Clinical Laboratory Standards Institute M40-A, a performance da vitaliade é medida para todos os organismos submetidos a test de afinação 48 horas comparado com critério de aceitação.

Nos estudos de performance da vitalidade seja Roll-Plate que em Diluição do zaragatoa, o Sistema Copan MSwab™ foi capaz de manter uma recuperação aceitável de todos os organismos avaliados seja com refrigeração (4 – 8º C) que a temperatura ambiente (20 – 25º C). A recuperação aceitável para o Método Roll-Plate é definida como ≥5 UFC após o tempo de conservação especificado pela diluição especifica que origina contas em placa a tempo zero quanto mais próximas possível a 300 UFC. A recuperação aceitável para o Método de Eluição do Zaragatoa é definido como um declino não superior a 3 log10 (1 x 10^3 +/- 10%) das UFC entre o momento zero da conta das UFC e las UFC dos tampões após o tempo de conservação especificado.

Ulteriores pontos temporais foram testados para Staphylococcus aureus, ATCC 29213 e ATCC 6538, e para Staphylococcus aureus (meticilina resistente) ATCC 43300 e ATCC 700698.
Nos estudos de performance da vitalidade em Roll-Plate, o Sistema Copan MSwab™ foi capaz de manter uma recuperação aceitável de todos os organismos avaliados seja a temperatura refrigerada (4 – 8º C) por 14 dias que a temperatura ambiente (20 – 25º C) por 72 horas. A recuperação aceitável para o Método Roll-Plate é definida como ≥5 UFC após o tempo de conservação especificado pela diluição especifica que origina contas em placa a tempo zero quanto mais próximas possível a 300 UFC.

Os estudos de performance da vitalidade incluem também uma avaliação do sobrecrescimento bactérico a temperatura refrigerada (4-8ºC). Para o Método de Eluição do zaragatoa foi efectuada uma avaliação de sobrecrescimento em todas as especies bactéricas testadas após 48 horas de conservação. A avaliação do sobrecrescimento com a utilização do Método de Eluição do Zaragatoa é definido como uma aumento maior de 1 log10 entre o tempo zero da conta das UFC e o tempo de conservação. Para o Método Roll-Plate, a avaliação do sobrecrescimento é efectuada com uma analise separada cujos tampões são dosados com 100µl contidos 10^2 UFC de cultura de Pseudomonas aeruginosa. O sobrecrescimento nestas condições é definida como um aumento maior de 1 log10 das UFC entre o tempo zero da conta das UFC e o tempo de conservação de 48 horas.
O Sistema Copan MSwab™ não mostrou algum sobrecrescimento na base dos critérios de aceitação no Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A.

O Sistema Copan MSwab™ foi capaz de manter a vitalidade dos seguintes organismos pelo menos por 48 horas seja a temperatura ambiente (20 – 25º C) que com refrigeração (2 – 8º C) às condições de teste acima descritas: Virus Herpes Simplex Tipo 1, Virus Herpes Simplex Tipo 2.

Manutenção dos ácidos nucleicos

As amostras recolhidas através de MSwab™ a analisar co técnicas de amplificação de ácidos nucleicos devem ser analisadas entre 14 dias se forem conservados a temperatura ambiente (20,25ºC), entre 21 dias se conservados a +4ºC e enre 6 meses se conservados a -20ºC.
Testes de performance com Copan MSwab™ foram conduzidos utilizando suspensões de grilhas de laboratório depositados no zaragatoa FLOQSwab associado ao terreno. As grilhas testadas incluem: B. pertussis (ATCC 8467), S. aureus (meticillina resistentes) (ATCC 43300), E. coli O157-H7 (ATCC 700728), S. tiphimurium (ATCC 14028), C. dificil (ATCC 9689), Gripe A virus (ATCC VR-822) , Gripe B virus (ATCC VR 786) Neisseria gonorrhoeae ATCC 43069 e Chlamydia trachomatis ATCC VR880. Não foram conduzidos testes de performance utilizando amostras humanas ou matrizes de origem humana.

Os resultados obtidos dependem principalmente de uma recolha apropriada das amostras, assim como do transporte e processamento pontual no laboratório.

This page is intentionally blank

This page is intentionally blank

Index of Symbols/Table des Symboles/Symbole/Tabla de Simbolos/Tabella dei Simboli/Quadro de Símbolos/Symboltabell

Symbol/Symbole/Simbolo	Meaning/Signification/Bedeutung/Significado/Significato/Significado/Significato/Betydning
	Manufacturer/Fabricant/Hersteller/Fabricante/Fabbricante/Fabricante/ Fabrikant/Tillverkare
IVD	In vitro diagnostic device /Dispositivo diagnostico in vitro/ dispositif de diagnostic in vitro/ Diagnosegerät in vitro/ dispositivo de diagnóstico in vitro/ diagnostisk anordning in vitro/ diagnostisk utstyr in vitro
CE 0123	Identification number of notified body/Identification de l'organisme notifié/Identifizierung der benannten Stelle/Identificación del organismo notificado/Identificazione dell'organismo notificato/Identificação do organismo notificado/ Identifikasjonsnummer ved påvist organisme/Identifieringsnummer av certifierad myndighet
STERILE EO	Sterilized using ethylene oxide/Sterilizzato usando ossido di etilene/ Sterilisiert mit Äthylenoxid/ Esterilizado usando óxido de etileno/ Esterilizado por óxido de etileno/ stérélisé à l'aide d'oxyde d'éthylène/ Sterilisert ved hjel av etylenoksid/ Steriliserad med etylenoxid/ Steriliseret med ethylenoxid
	Do no reuse/Ne pas réutiliser/Nicht zur Wiederverwendung/No reutilizar/Non riutilizzare/Não voltare a usar/ Må ikke brukes på nytt/Får inte återanvändas
REF	Catalogue number/Réference du catalogue/Bestellnummer/Número de catálogo/Numero di catalogo/Referência do catálogo/ Katalognummer/Katalognummer
	Temperature limitation/Limites de temperature/Temperaturbegrenzung/Limites de temperatura/Limiti di temperatura/Limites de temperatura/Temperaturgrenser/Temperaturgränser
	Use by/Utiliser jusque/Verwendbar bis/Fecha de caducidad/Utilizzare entro/Prazo de validade/ Må brukes innen/ Ska användas innan
	Consult Instructions for Use/Consulter les instructions d'utilisation/Gebrauchsanweisung beachten/Consulte las instrucciones de uso/Consultare le istruzioni per l'uso/Consultar as instruções de utilização/ Se instruksjoner for bruk/Se bruksanvisningen
	Peel/Décoller/Abziehen/Desprender/Strappare per aprire/Destacável/Dra/Dra för att öppna
LOT	Batch code (Lot)/Code de lot (Lot)/Chargencode (Chagenbezeichnung)/Código de lote (Lote)/Codice del lotto (partita)/ Código do lote (Lote)/ Lot nummer (parti)/Serienummer(parti)
Σ	Contains sufficient for <n> tests/Contenu suffisant pour <n> tests/Ausreichend für <n> Tests/Contenido sufficiente para <n> pruebas/Contenuto sufficiente per <n> test/Contémo sufficiente para <n> testes/ Innhold tilstrekkelig for <n> test/Innehåller tillräckligt för<n> tester

Copan Flock Technologies Srl
Via F. Perotti, 18
25125 - Brescia, Italy

Copan Flock Technologies Srl
Via F. Perotti,18
25125 - Brescia, Italy
Tel +39 030 3666100
Fax +39 030 2659932
Email:info@copanflock.com
Website: www.copaninnovation.com

North American Distributor:
Copan Diagnostics Inc.
26055 Jefferson Avenue
Murrieta, CA 92562 USA
Tel: 951-696-6957
Fax: 951-600-1832

E-mail: copanswabs@aol.com
Website: www.copanusa.com

COPAN